ISTITUTO BOTANICO DELLA UNIVERSITÀ
LABORATORIO CRITTOGAMICO
PAVIA

ATTI

SERIE 5

VOLUME VIII (4)

TIPOGRAFIA MARIO PONZIO - PAVIA

— 1950 —

Indice dei fascicoli pubblicati nella SERIE 5

Efficacia inibitoria dell'O-isopropil-N-fenil carbamato sullo sviluppo del *Cynodon Dactylon*

R. CIFERRI e F. BERTOSSI

L'azione selettiva dell'O-isopropil-N-fenilcarbamato (IPPC) sulle Monocotiledoni — e più specificamente sulle Graminacee — è stata indagata soprattutto da ALLARD e coll. (1) TEMPLEMANN e SEXTON (2), ed ENNIS (3). Tali esperienze hanno avuto per oggetto, principalmente, lo studio della sensibilità di Graminacee annuali del tipo cereale rispetto a Dicotiledoni. Sulle Graminacee poliennali che si moltiplicano anche per rizomi, ci sono note le esperienze di CARLSON (4), effettuate sull'*Agropyron repens*. Egli osservò che soluzioni della concentrazione di 1000 p.p.m. erano appena dannose alle foglie, mentre sui rizomi concentrazioni dell'ordine di 500-1000 p.p.m. ne impedivano la germogliazione.

Poichè uno dei problemi più seri nell'infestazione di malerbe nei campi è dato dalla « gramigna » (*Cynodon Dactylon*), l'efficacia dell'IPPC (campione tecnico di origine americana) fu saggiata su pezzi di rizomi radicali con foglie di questa pianta. I rizomi, lunghi 10-20 cm. furono : 1) trattati per immersione rapida delle foglie e del culmo (non delle radici) in soluzioni acquose di IPPC sciolto in poco glicole polietilenico (del tipo Carbowax) e quindi portato a volume onde ottenere una concentrazione iniziale di 2000 p.p.m. ; poscia progressivamente diluito sino a 1,95 p.p.m.. I rizomi furono quindi piantati a tre per tre in vasetti di terra coltivati all'aperto, in pieno sole, durante 2 mesi ; 2) coltivati in provette contenenti la soluzione nutritizia di SHIVE assieme all'IPPC, da 250 p.p.m. sino a 1,95 p.p.m. Tali provette furono lasciate fuori d'una finestra del laboratorio, e lo sviluppo di rizomi osservato sino a dopo 4 settimane dal trattamento. In ogni caso si mantennero in cultura, parallelamente, dei rizomi non trattati, in qualità di testimoni.

I risultati (espressi come media di 3 rizomi per ogni concentrazione) furono indicati col numero dei culmi sviluppati :

EFFICACIA INIBITORIA DELL' IPPC SUI RIZOMI
DI CYNODON DACTYLON «*IN VITRO*»

Concentrazioni dell' IPPC p. p. m.	Numero dei nuovi culmi	
	per cultura in terra dopo immersione rapida dei culmi e delle foglie N⁰	per cultura in Shive con IPPC N⁰
0 (teste)	6,3	5,7
2.000	0	
1.000	0	
500	1,6	
250	1,3	0
125	4,0	0
62,5	6,3	0,3
31,25	6,0	1,3
15,62	7,3	2,6
7,81	5,3	5,0
3,90	6,6	6,6
1,95	7,0	6,3

Allo scopo di precisare le concentrazioni minime utili per immissione nel suolo dell'IPPC, si preparò una serie di vasi contenenti circa 1 Kg. di buona terra umosa di giardino, che furono bagnati con 100 ml. delle soluzioni di IPPC. Ognuno dei vasi fu quindi piantato con 10 rizomi di *Cynodon,* computando il numero totale dei culmi apparsi dopo 2 mesi di cultura all'aperto, al sole, con buone irrigazioni bisettimanali.

EFFICACIA INIBITORIA DELL' IPPC SUI RIZOMI
DI CYNODON DACTYLON *IN TERRA*

Concentrazione p. p. m.	Peso totale di IPPC gr.	Numero dei culmi per vaso		
		Iniziale N⁰	dopo 2 mesi N⁰	Incremento percentuale medio
0 (teste)	0	23	79	343 %
500	0,05	17	19	111 »
400	0,04	26	31	119 »
300	0,03	21	39	186 »
200	0,02	19	50	263 »
100	0,01	25	63	252 »
50	0,005	24	72	300 »

Da queste esperienze, benchè a carattere preliminare, si possono trarre le seguenti conclusioni :

1) l'IPPC non uccide gli stoloni radicati e foliosi del *Cynodon Dactylon,* alle varie concentrazioni usate, ma ha un sensibile potere inibitorio sullo sviluppo e la moltiplicazione dei culmi. Il disseccamento delle foglie trattate è indipendente dalla germogliazione di nuove foglie e dallo sviluppo e germogliazione degli stoloni.

2) Per immersione istantanea dei culmi e delle foglie e successiva cultura in terra, il potere inibitorio è totale a 2.000-1.000 p.p.m., forte a 500-250 p.p.m., basso a 125 p.p.m. e nullo o quasi al disotto. La curva è, però, irregolare, sino alla dose di 62,5 p.p.m.

3) per cultura degli stoloni in Shive contenente IPPC, il potere inibitorio sullo sviluppo è totale a 62,5 p.p.m., forte a 15,6 p.p.m. e nullo o quasi al disotto. La curva è assai più regolare di quella precedente.

4) Per trattamento della terra, il potere inibitorio dell'IPPC è forte alla dose di gr. 0,04, notevole a gr. 0,03, e mediocre a gr. 0,02-0,01 per Kg. di terra medianamente umida, e nullo al disotto.

Questi risultati sono incoraggianti circa le applicazioni pratiche dell'IPPC nella lotta contro le infestazioni di gramigna.

Istituto Botanico dell'Università, Pavia (*Novembre* 1949).

SUMMARY

These preliminary studies are indicative of the effectiveness of technical O-isopropyl N-phenylcarbamate (IPPC) against Bermuda-grass (*Cynodon Dactylon*). By rapid immersion of aerial parts of rooted and leaved rhizomes in IPPC solution, a total inhibitory power on growth has been observed up to 1.000 p.p.m., strong at 250 p.p.m., and low at 125 p.p.m. By culture in Shive solution, the inhibitory power was total with dosage as low as 62,5 p.p.m., the lowest limit of effectiveness being 15,6 p.p.m. By treatment of soil with IPPC solutions, the inhibition of growth was total at gr. 0,04, and the growth reduced at 0,02-0,01 gr. for each Kg. of soil.

BIBLIOGRAFIA

1) ALLARD, R. W., ENNIS, W. J. Fr., DE ROSE, H. R. and WEAVER, R. W. (1946) - Bot. Gaz. **107**, 589 - 596.

2) TEMPLEMANN, W. G. and SEXTON, W. A. (1945) - Nature, **156**, 630 (1946) - Proc. Roy. Soc. Sci., **133 B**, 300.

3) ENNIS, W. B. Fr. (1947) Science, **105**, 95-96 - (1948). Amer. Journ. Bot., **35**, 15-21 - (1948). Bot. Gaz., **109**, 473-493.

4) CARLSON, R. F. (1947) - Quart. Bull. Mich. Sta. Coll., **29**, 274 - 280.

Contributo alla conoscenza dell'attività fitoinibitoria del γ-esaclorocicloesano

F. BERTOSSI e R. CIFERRI

Questa nota vuol rappresentare il seguito di un nostro breve lavoro (BERTOSSI e CIFERRI, 1947) pubblicato due anni or sono, e raccoglie il risultato di esperienze eseguite nel 1948 che, per varie ragioni, non poterono essere pubblicate immediatamente.

Avevamo allora potuto dimostrare che i vari isomeri conosciuti dell'esaclorocicloesano erano tutti, in differente misura, dotati di una certa attività fitoinibitoria, anche alla bassissima concentrazione di soluzioni sature in acqua, senza intervento di solventi intermedi o di agenti emulsionanti. L'attività inibitoria era per gli isomeri γ e δ assai maggiore che per gli isomeri α e β, mentre il prodotto tecnico (miscela dei vari isomeri non chimicamente puri) e gli insetticidi commerciali a base di esaclorocicloesano si dimostrarono tossici, bloccando completamente la crescita del germinello di Lupino bianco nel teste di MACHT. Questa tossicità sembrò potersi attribuire alle impurezze presenti nei prodotti tecnici, specialmente sotto forma di composti clorinati del benzolo.

Per quanto riguarda i vegetali superiori i nostri risultati vennero rapidamente confermati da numerosi altri autori. GÜNTHART (1947) rilevò effetti inibitori; WALLACE (1947) dimostrò che una dose di 0,05 once per piede cubico di terreno era tossica nei riguardi della crescita di pianticelle di mais. GHIDINI (1948) lavorando su semi d'erba medica seminati in sabbia contenente da 0,1 % a 0,0125 % di isomeri dell'esaclorocicloesano, rilevò una notevole diminuzione della velocità di germinazione e una forte inibizione di crescita delle radichette. STOKER (1948) riporta che insetticidi a base di esclorocicloesano si rivelarono tossici su piante di ravanello, navone, rapa, spinaccio, barbabietola ecc. SCHOPFER e BEIN (1948) riportano il potere inibitorio dell'isomero γ alla concentrazione di 6 « gamma » per cc. sulla radice di *Pisum sativum* coltivata « in vitro ».

POUSSEL (1948), MORRISON e coll. (1948), KOSTOFF (1948), GISQUET e QUIDET (1948), SMITH (1948), SMITH (1948), QUIDET e HITIER (1948), CHULSKI (1948), WILSON (1948), SCARAMUZZI e BERTOSSI (1949), CIFERRI e BERTOSSI (1949) ecc. riportano effetti di inibizione di crescita o addirittura tossici dovuti all'azione sia di isomeri puri che di composti commerciali dell'esaclorocicloesano su numerose piante.

Di fronte a questi risultati bisogna riferire che GUNTHART (1947) e CHULSKI (1949) notarono, accanto ad un'inibizione di crescita, anche, in alcuni casi, una accelerazione; un'attività che si potrebbe chiamare fito-eccitante venne pure riferita da BOURNE (1948) nei riguardi della canna da zucchero e da GOLDSWORTHY (1948) per una varietà di fragola. Altri A.A. non rilevarono invece effetti nè tossici o inibitori, nè eccitanti per trattamenti sia con composti commerciali che con isomeri puri.

E' da notare che già BERTOSSI e CIFERRI (1947) avevano indicato una leggera e transitoria attività fito-eccitatrice, non statisticamente significativa, per gli isomeri αeδ, e pure KOSTOFF (1948) aveva notato un effetto stimolante su *Brassica nigra,* seguito però da una notevole depressione di crescita; MORRISON e coll. (1948) rilevarono che le Crucifere mostravano un apparente aumento del vigore vegetativo.

Anche sui miceti fungini l'azione del γ - esaclorocicloesano è in generale da considerarsi o tossica o inibente la crescita, e basti citare BUSTON, JACOBS e GOLDSTEIN (1945), NORRIS (1946), KIRKWOOD e PHILLIPS (1946) SCHOPFER, POSTERNAK e BOSS (1947), CIFERRI, BORZINI e BERTOSSI (1947), ecc.

Circa l'azione del γ - esaclorocicloesano sulle mitosi nei vegetali, essa venne in un primo tempo studiata da NYBON e KNUTSSON (1947) ed in seguito da POUSSEL (1948), KOSTOFF (1948), CHARGAFF e coll. (1948), QUIDET e HITIER (1948), D'AMATO e AVANZI (1948), DOXEY (1949), D'AMATO (1949), D'AMATO (1949), KOSTOFF (1949), ecc.

Per ciò che riguarda la modalità d'azione del γ - isomero nei vegetali, bisogna ricordare che l'ipotesi della esistenza di un antagonismo tra il γ - esaclorocicloesano e la mesoinosite venne emessa (ed in linea del tutto teorica) da SLADE (1945 e 1946), supponendo la stessa struttura spaziale della molecola dei due composti. I lavori pubblicati su questo argomento, sia utilizzando la crescita dei miceli fungini (KIRKWOOD e PHILLIPS (1946), BUSTON e coll. (1946), SCHOPPER e coll. (1947), sia l'attività colchicino-mitotica (CHARGAFF e coll., 1948; D'AMATO, 1949) sia infine l'allungamento di radici coltivate « in vitro » (SCHOPPER e BEIN, 1948) non permettono di trarre conclusioni, essendo i dati piuttosto contrastanti fra di loro. Del resto anche per quanto riguarda le relazioni tra γ-esaclorocicloesano e me-

soinositolo negli animali i risultati sinora raggiunti (DRESDEN e coll., 1948; MAC NAMARA e coll. 1948; CHAIX e LACROIX, 1948, eco.) non sono certamente definitivi. L'ipotesi di Slade non è d'altra parte sostenibile da un punto di vista chimico, in quanto farebbe supporre la configurazione ε ϰ ϰ ϰ ϰ ϰ per il γ-esaclorocicloesano secondo la terminologia di HASSEL (1943) mentre MELANDER (1946) ammette la configurazione ε ε ϰ ϰ ϰ ϰ e VAN VLOTEN e coll. (1948) ritiene senz'altro da escludersi la formula proposta da SLADE determinando per il composto in esame la configurazione εεεϰϰϰ (per maggiori particolari vedi ROLLA, 1949).

METODI DI STUDIO

Allo scopo di ottenere dei dati numerici sufficientemente esatti, abbiamo creduto opportuno utilizzare il saggio del lupino secondo MACHT, nelle condizioni ormai standardizzate dal nostro laboratorio, esposte da CIFERRI e BERTOSSI (1949) e che brevemente riassumiamo:

Semi di *Lupinus albus*, geneticamente omogenei e di dimensioni e peso uniformi, vengono lasciati rigonfiare in acqua al buio per 15 ore a temperatura di 23° C. Vengono fatti germinare, sempre nelle stesse condizioni ambientali, su sabbia silicea lavata, sino a che i germinelli non abbiano raggiunto una lunghezza di 35-40 mm. Vengono scelti quelli di lunghezza 37,5 ± 2,5 mm. e posti nelle vaschette contenenti le sostanze da saggiare (in soluzione nutritizia di SHIVE), mantenuti in camera termostatica a 23° C.; le nostre esperienze vennero eseguite in piena oscurità. Dalla misurazione giornaliera della lunghezza dei germinelli si ricava un *indice di allungamento* e dal rapporto fra gli indici di allungamento dei germinelli trattati e dei testimoni (in soluzione di SHIVE pura) viene ricavato un *indice fitotossico* (i.f.t.). I risultati sono elaborati statisticamente o con la ricerca di t o con l'analisi della varianza, a seconda dei casi.

Si preferì usare, data la scarsissima e per di più non esattamente nota solubilità degli isomeri, delle soluzioni sature ottenute ponendo circa 100 mmgr. di sostanza per litro di soluzione e lasciando a contatto per 24 ore agitando frequentemente con un agitatore meccanico, filtrando poi prima dell'uso. Per lo studio delle miscele di isomeri, si seguì quanto indicato da MACHT (1929) per sperimentare il sinergismo fra canfora destrogira e levogira e da MACHT e DAVIS (1935) per nicotina e nornicotina.

Il piano di lavoro fu il seguente:

1) Poichè dall'esame della letteratura risulta una notevole disparità di vedute circa la tossicità o il potere fitoinibitorio dell'isomero γ, si sono esaminati quattro campioni di γ - esaclorocicloesano rivelatisi puri alla

analisi, ma ottenuti con metodi di purificazione diversi (1), in modo da poter constatare se essi possedessero una diversa attività.

2) Dato che i composti commerciali si erano dimostrati più tossici che non l'isomero γ, parve opportuno vedere se la maggiore attività fitoinibitoria non fosse in parte dovuta a fenomeni di potenziamento reciproco fra i vari isomeri, tutti presenti nei prodotti non puri.

3) Vedere se fosse possibile mettere in luce una qualche relazione sicura fra mesoinositolo e isomero γ. Queste particolari ricerche non furono condotte a termine, dati i risultati ottenuti nei due punti precedenti.

RISULTATI OTTENUTI

1) *Tossicità del γ - esaclorocicloesano.*

I vari campioni sono stati distinti con le lettere dell'alfabeto: si sono riportati anche i dati di Bertossi e Ciferri (1947) anche se non perfettamente comparabili per leggere differenze nella tecnica usata (germinelli di lunghezza minore, esperienza eseguita alla luce diurna diffusa). I risultati, limitati per brevità all'i.f.t., sono riassunti nella tabella I.

TABELLA I

Indice fitotossico di vari campioni di γ - isomero dell'esaclorocicloesano al teste di Matcht.

giorni \ campioni di γ isomero	A	B	C	D	Bertossi-Ciferri 1947
0	100	100	100	100	100
1	95	98	76	89	94,3
2	91	100	57	81	89,6
3	89	92	47	77	88,5
4	91	93	40	75	87,9

Le esperienze vennero eseguite in un unico blocco e con lupini rigorosamente uguali anche nei riguardi dell'età. L'indagine statistica ha dimostrato che la differenza di comportamento dei vari campioni è altamente significativa ($P < 0,01$). Il campione B non ha, almeno per i primi due

(1) Siamo grati al prof. G. B. Bonino, Direttore degli Istituti di Chimica dell'Università di Bologna, che volle gentilmente prepararci sia i campioni di isomero γ, che i campioni degli isomeri α, β e δ.

giorni, alcuna attività inibitoria rilevabile, essendo la P del primo giorno (i.f.t. = 98) > 0,30. Per questo campione non si sono pure osservati l'annerimento e la brusca rastrematura dell'apice radicale osservati sia per gli altri campioni sia da BERTOSSI e CIFERRI (1947).

2) *Potenziamento reciproco degli isomeri.*

I risultati relativi a questa esperienza sono riassunti, sempre limitatamente all'i.f.t., nella tabella II, solo per quanto riguarda quelli del primo e del quinto giorno di esperienza riportando, accanto ai dati ottenuti sperimentalmente, anche i dati teorici calcolati e la *P* delle differenze riscontrate. Solo in presenza di una *P* tale da rendere i dati significativi si è riportato il valore della differenza, dandole segno positivo in presenza di potenziamento reciproco e segno negativo in presenza di un antagonismo di azione.

TABELLA II

POTENZIAMENTO RECIPROCO DEI DIFFERENTI ISOMERI DELL'ESACLOROCICLOESANO AL TESTE DI MACHT

	1° giorno				5° giorno			
	VALORI DELL'I. F. T.		P	Δ	VALORI DELL'I. F. T.		P	Δ
	trovato	calcolato			trovato	calcolato		
α + β	94	96	0,3 > < 0,1	=	96	88	< 0,01	— 8
γ + α	97	94	0,1 > < 0,05	=	96	89	»	— 7
α + δ	99	95	0,01 > < 0,001	— 4	95	77	»	— 18
β + γ	100	97	0,01 > < 0,001	— 3	95	90	»	— 5
β + δ	96	97	0,3 > < 0,1	=	84	78	»	— 6
γ + δ	93	95	idem	=	89	79	»	— 10
α + β + γ	93	96	»	=	87	89	0,3 > < 0,1	=
α + β + δ	97	96	»	=	92	81	< 0,01	— 11
α + γ + δ	96	95	»	=	92	82	»	— 10
β + γ + δ	96	97	»	=	94	82	»	— 12
α+β+γ+δ	97	96	»	=	97	83	»	— 14
α	94				88			
β	99				89			
γ	95				91			
δ	95				67			

E' evidente la mancanza di un potenziamento reciproco fra i vari isomeri mentre è invece chiara la manifestazione di un antagonismo di azione che, molto lieve e non troppo significativo al primo giorno, diviene molto evidente al quinto con una variazione di i.f.t. che giunge, per il caso della miscela $\alpha + \delta$, a ben 18 unità, con dati dotati di una P ottima.

3) *Relazioni fra γ - esaclorocicloesano e mesoinositolo.*

A questo riguardo non siamo riusciti, sino ad ora, ad ottenere dati definitivi. Si ha la netta impressione che anche sul *Lupinus albus* non si possa mettere in evidenza alcuna azione antigamma da parte della mesoinosite. D'altra parte le ricerche sono state interrotte, dato i risultati precedentemente ottenuti.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI E CONCLUSIONI

Sono particolarmente interessanti i dati riguardanti la tossicità di vari campioni di γ - esaclorocicloesano « chimicamente puri », la cui purezza era stata controllata attraverso la costanza di tutti controlli chimico-fisici. Il punto di fusione era 112,8-113,1; il momento dipolare, μ-2,84 D. (1).

E' evidente che non si tratta di campioni di uguale attività fitodinamica e quindi non si dovrebbe parlare di prodotti « chimicamente puri » nel senso che gli attuali metodi di purificazione della sostanza in esame non permettono di liberarla completamente dai composti accessori che, in traccie, non sono facilmente rilevabili. Si deve d'altra parte escludere d'essere in presenza di grossolane impurezze, sia per i metodi di controllo fisicochimico usati nella preparazione, sia perchè (ed anche questo ha la sua importanza) la sintesi venne eseguita in un laboratorio particolarmente esperto in questo campo.

Essendo stati i dosaggi eseguiti contemporaneamente, con seme di lupino di provata eguale reattività (2) ed essendo stati i dati elaborati statisticamente, si può escludere un errore di esperienza. Del resto avevamo

---

(1) Le costanti chimico fisiche vennero determinate dal prof. Mario Rolla che desideriamo ringraziare pubblicamente. Il valore del momento dipolare $\mu = 2,84$ u. D. da lui trovato è sensibilmente inferiore a quello di $\mu = 3,65$ u. D. trovato precedentemente da Meiander (1946). Ricerche recentissime hanno dimostrato che il valore riscontrato dal prof. Rolla è esatto.

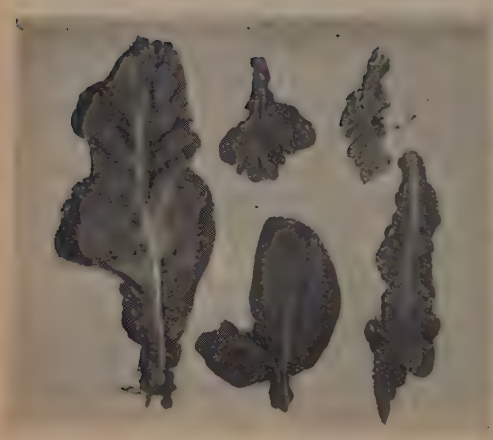
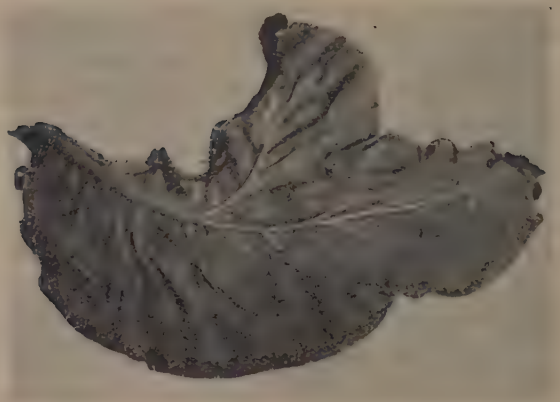
(2) In occasione di ricerche sull'azione della adrenalina e di sostanze adrenalino-simili, come pure in occasione di ricerche con composti auxino-simili, abbiamo potuto mettere in evidenza una diversa reattività dei germinelli di *Lupinus albus* a seconda dell'età e della provenienza del seme (inedito).

già fatto notare che pure dalla bibliografia si rileva una discreta discordanza di giudizi sulla tossicità o sulla efficacia inibitoria dell'isomero γ; e anche sull'entità del potere poliploidizzante non esiste una completa identità di vedute.

Ci sembra che, in possesso dei dati sopra esposti e dei dati desunti dai vari autori che si occuparono dell'argomento in studio, si possono emettere due ipotesi, naturalmente con tutte le riserve del caso, e cioè:

I) I differenti isomeri considerati, ed in particolare il γ, possiedono un loro potere fitoinibitorio ed in tal caso le differenze quantitative riscontrate tra i vari campioni di isomero γ sono dovute a traccie di impurezze non svelabili facilmente con i metodi d'analisi chimica comunemente adoperati. Verificandosi questa ipotesi, è assai difficile dire quale sia l'isomero più dotato di potere fitoinibitorio, in quanto, ad esempio, mentre precedentemente (BERTOSSI e CIFERRI, 1947) avevamo indicato l'isomero γ come il più attivo sui vegetali, se noi consideriamo il campione siglato con la lettera *B*, oppure il gruppo di isomeri con i quali sono state eseguite le esperienze delle miscele, si dovrebbe indicare il δ - esaclorocicloesano come quello dotato di maggiore attività inibitoria.

II) Gli isomeri esaminati, ed in particolare l'isomero γ, non hanno, di per sè stessi ed alle concentrazioni considerate, un potere fitoinibitorio, ma questo è dovuto esclusivamente ad una qualche impurezza, avente fortissima attività. Ricordiamo a questo proposito che esistono, oltre agli esaminati, altri isomeri possibili, dei quali uno, l'ε, già scoperto ed isolato da qualche anno (KAUER e coll., 1947).

Quale delle due ipotesi abbia maggiore fondamento non è facile dire; certamente però, tenendo presente l'altissimo potere fitoinibitorio delle impurezze, ci sembrerebbe più probabile l'ipotesi II, tanto più che le maggiori manifestazioni di attività si sono sempre avute con i composti commerciali. Queste impurezze sono del tipo cloruro di benzile, cloruro di benzale ed isomeri del triclorobenzolo la cui efficacia fitoinibitoria è nota. GAVAUDAN P. e GAVAUDAN N. (1940) riportano tra l'altro che l'1, 3, 5 - triclorobenzolo ha proprietà poliploidizzanti e induce la formazione di cellule polinucleate, producendo nei germinelli di *Triticum sativum* le stesse deformazioni descritte poi da KOSTOFF (1948) per un composto commerciale a base di γ - esaclorocicloesano. E' anche molto significativo il fatto che, innaffiando per parecchi giorni di seguito piantine di tabacco (allevate in terrine su sabbia) con una soluzione satura filtrata di isomero γ « puro » (campione B), non si è riscontrato nulla di macroscopicamente rilevabile nella parte aerea, mentre l'innaffio « una tantum » al momento del trapianto di piantine della stessa razza di tabacco con una soluzione di un

composto commerciale a base di esaclorocicloesano (il liquido aveva una concentrazione di circa 17 p.p.m. di isomero γ) si sono avute anomalie fogliari molto significative (fig. 1-2-3-4) riferibili a quelle già riscontrate da altri AA., pure per prodotti commerciali insetticidi a base di esaclorocicloesano.

E' per quanto sopra che, *in linea del tutto teorica,* si può giungere sino all'ipotesi che anche il potere poliploidizzante attribuito all'isomero γ, riscontrato in grado diverso dai vari A.A., sia pertinente, almeno in parte, ad altri composti presenti anche in traccie lievissime.

Dato quanto esposto sopra, riesce oltremodo difficile cercare una interpretazione ai risultati relativi alla attività di miscele di isomeri. La caduta della tossicità nelle miscele rispetto agli isomeri singoli è molto evidente con differenze molto significative col passare dei giorni. Esistono dei fenomeni di « antagonismo » di azione, ma non è possibile dire se questo antagonismo si esplica fra i vari isomeri o non piuttosto fra le impurezze contenute; non è nemmeno da escludere (ed è anzi possibile) che entrino in gioco meccanismi di origine chimico-fisica o chimico-biologica, che agiscono sulla possibilità di assorbimento da parte dell'ipocotile delle plantule di *Lupinus albus.*

E' evidente che in queste condizioni di lavoro, ignorando cioè l'effettivo potere fitoinibitorio del γ -esaclorocicloesano, era del tutto inutile continuare nelle ricerche sulle relazioni tra detto composto e il mesoinositolo. Nessuna conclusione certa avrebbe potuto trarsi, come a conclusioni non concordi giunsero gli AA. che ci hanno preceduto in questa ricerca. Non possiamo che confermare le conclusioni a cui giunsero SCHOPFER e coll. (1947), che cioè è prematura qualsiasi ipotesi di eventuali relazioni specifiche fra mesoinositolo e - esaclorocicloesano.

SUMMARY

The study of phythoinhibitory power of the isomers of benzene exachloride (started from the year 1947) were prosecuted in our laboratory. The activity has been tested with the white lupin growth method according MACHT, as standardized in our laboratory, the results being statistically checked. Four laboratory sample of γ - isomer of « chemically purified » HCH, tested under the same experimental conditions, demonstrated phythotoxic indexes statistically well different. The association of all isomers in combination of two and three, and the four, yielded bewildering results, but - as a rule - an antagonistic effect.

One possible interpretation of the results is that all the isomers (chiefly γ) are phythoinibitory; as alternative, that another compound of highest phythoinibitory power, is associated with the isomers. In our opinion, the second interpretation is more releable than the first one.

Of course, the idea of antagonistic effect between γ - isomer and mesoinositol is premature.

Pavia, Istituto Botanico dell'Università, dicembre 1949.

LETTERATURA CITATA

Bertossi F. e Ciferri R. (1947) — Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia, ser. V, **3**, 291.
Bourne B. A. (1948) — Sugar J., **10**, 20.
Buston H. W., Jacobs S. E. e Goldstein A. (1946) — Nature, **158**, 22.
Chaix P. e Lacroix L. (1948) — Bioch. Bioph. Acta, **2**, 86.
Chargaff E., Stewart R. N. e Magasanik B. (1948) — Science, **108**, 556.
Chulski K. (1948) — Quart. Bull. Michigan St. College, **31**, 170.
Ciferri R. e Bertossi F. (1949) — Experientia, **5**, 289.
Ciferri R., Borzini G. e Bertossi F. (1947) — Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia, ser. V, **3**, 297.
D'Amato F. (1949) — Caryologia, I, 109.
D'Amato F. (1949) — Caryologia, I, 209.
D'Amato F. e Avanzi M. G. (1948) — N. G. Bot. It., **55**, 161.
Doxey D. (1949) — IInd Int. Congr. of Crops Prot., Abstracts of Comunications, 36.
Dresden D. e Krygsman B. (1948) — Bull. Ent. Res., **38**, 575.
Gavaudan P. e Gavaudan N. (1940) — C. R. Séanc. Soc. Biol., **133**, 348.
Ghidini G. M. (1948) — Riv. Fitosanitaria, **1**, (estr.).
Gisquet M. M. e Quidet P. (1948) — Rev. Int. des Tabacs, **23**, 57.
Goldsworthy M. C. (1948) — Plant Dis. Reptr., **32**, 186.
Gunthart E. (1947) — Mitt. Schweiz. Entom. Gesell., **20**, 1, (estr.).
Hassel O. (1943) — Tids. Kjemi Bergvesen Met., **3**, 32.
Kauer K. C., Duwall R. B. e Alquist F. N. (1947) — Ind. Eng. Chem., **39**, 1335.
Kirkwood S. e Phyllips P. H. (1946) — J. Biol. Chem., **163**, 251.
Kostoff D. (1948) — Nature, **162**, 845.
Kostoff D. (1949 — Science, 109, 467.
Mac Namara B. P. e Krops S. (1948) — J. Pharmacol., **92**, 140.
Mac Namara B. P. e Krops S. (1948) — J. Pharmacol., **92**, 147.
Matcht D. I. (1929) — Proc. Nat. Acad. Sc., **15**, 63.
Macht D. I. e Davis E. M. (1935) — Am. J. Bot., **22**, 329.
Melander (1946) — Svensk. Kem. Tids., **58**, 231.
Morrison H. E., Crowell H. H., Grumb S. E. e Lauderdale R. W. (1948) — J. Econ. Entom., **41**, 374.
Norris D. (1946) — J. Austr. Inst. Agr. Sc., **12**, 51.
Nybon N. e Knutson B. (1947) — Hereditas, **33**, 220.
Poussel H. (1948) — Gallica Biol. Acta., **1**, 11.
Quidet P. e Hitier H. (1948) — C. R. Acad. Sc., **226**, 833.
Rolla M. (1949) — Gazz. Chim. Ital., **79**, 491.
Scaramuzzi G. e Bertossi F. (1949) — Il Tabacco, **595**, 3.
Schopfer W. H. e Bein M. L. (1948) — Experientia, **4**, 147.
Schopfer W. H., Posternak Th. e Boss M. L. (1947) — Schw. Zeit. Path. Bakter., **10**, 443.
Slade R. E. (1945) — Chem. Trade J., **116**, 279.
Slade R. E. (1946) — Chem. and Ind., **40**, 314.
Smith M. S. (1948) — Nature, **161**, 246.
Smith M. S. (1948) — Annals of App. Biol., **35**, 494.
Stoker R. I. (1948) — Annals of App. Biol., **35**, 110.
Van Vloten G. V., Kruissinkch A., Strijk B. e Bijvoet J. M. (1948) — Nature, **162**, 771.
Wallace C. R. (1947) — J. Austr. Inst. Agr. Sci., **13**, 132.
Wilson S. R. (1948) — J. Agric. Res., 77, **25**.

Forme biologiche delle piante e resistenza o suscettibilità al « 2,4-D »

F. BERTOSSI e R. TOMASELLI

La pubblicazione dei dati concernenti la resistenza o suscettibilità al diserbante selettivo chimico « 2,4-D » (acido 2-4-diclorofenossiacetico), saggiata durante quasi un triennio su numerose specie di piante silvestri e coltivate (1), ci offre il destro a trarne qualche conclusione d'assieme.

Le prove sono state condotte su 618 specie, tutte — salvo alcune poche — delle Angiosperme, delle quali 526 sono considerate nella presente analisi. Le prove per circa una metà delle osservazioni, sono state condotte con l'estere metilico del sale sodico (« Agroxone » I.C.I. della Solplant); un quinto circa con l'estere metilico dell'acido (« Weedone » Rumianca, su licenza dell'American Chemical Paint Co.) e l'altro quinto con l'acido emulsionato (« Barweed » dell'American Cyanamid Co., distribuito dalla S.I.A.P.A.). Per le ragioni indicate nel lavoro succitato le osservazioni sono riportate insieme.

Rimandando al lavoro stesso per maggiori dettagli, notiamo che sia per le piante erbacee che per quelle arboree, sono state adottate cinque (eccezionalmente sei) gradi di suscettibilità, così distinti:
RR = molto resistente; *R* = resistente; *RS* = mediocremente resistente; *SR* = mediocremente sucettibile; *S* = suscettibile; (*SS* = molto suscettibile).

Nella tabella riportata alle pagine seguenti sono riassunti i dati di cui in precedenza, per famiglie e per forme biologiche, in relazione ai diversi gradi di resistenza o suscettibilità.

---

(1) CIFERRI R. (1950). Notiz. Mal. Piante, 9, 44-56 (mimeografato).

TABELLA I — *DISTRIBUZIONE PER FAMIGLIA DELLE FORME BIOLOGICHE E DELLA RESISTENZA O SUSCETTIBILITA' AL « 2,4-D », ANCHE IN PERCENTUALI, DELLE SPECIE STUDIATE*

FAMIGLIE	FORME BIOLOGICHE							TOTALE	RESISTENZA o SUSCETTIBILITA' delle SPECIE						% della RESISTENZA o SUSCETTIBILITA' delle SPECIE					
	Th	H	Ch	Ph	G	Hy	E-A		RR	R	RS	SR	S	SS	RR	R	RS	SR	S	SS
ALISMATACEAE						2		2				1	1					50	50	
AMARANTACEAE	2							2		1	1					50	50			
AMARYLLIDACEAE			1		4			5	1	2		2			20	40		40		
AMPELIDACEAE				3				3		1	1	1				33,3	33,3	33,3		
ANACARDIACEAE				2				2		2						100				
APOCYNACEAE		2		1				3		2	1					66,6	33,3			
ARACEAE					2			2				1	1					50	50	
ARALIACEAE				1				1		1						100				
ARISTOLOCHIACEAE			1					1				1						100		
BALSAMINACEAE	1							1					1						100	
BERBERIDACEAE				1				1			1						100			
BETULACEAE				1				1				1						100		
BUXACEAE				1				1				1						100		
CACTACEAE			1					1	1						100					
CALYCANTHACEAE				1				1			1						100			
CAMELIACEAE				1				1			1						100			
CAMPANULACEAE	1							1				1						100		
CANNABINACEAE	1		1					2				1	1					50	50	
CAPPARIDACEAE				1				1		1						100				
CAPRIFOLIACEAE				6				6		2	4					33,3	66,6			
CARICACEAE				1				1				1						100		
CARYOPHYLLACEAE	7	3	7					17		7	7	2	1			41,2	41,2	11,7	5,9	
CHENOPODIACEAE	4	2						6			1	3	2				17	50	33	
COMMELINACEAE			2					2			1		1				50		50	
COMPOSITAE	8	16	6		1			31	3	6	6	9	7		9,7	19,4	19,4	29	22,5	
CONVOLVULACEAE			4					4		1	2	1				25	50	25		
CRASSULACEAE		1	1					2	1	1					50	50				
CRUCIFERAE	13	11						24		1	6	8	8	1		2,5	25	35	35	2,5
CUCURBITACEAE	6	1						7			2	1	3	1			28,56	14,28	42,84	14,28
CUPRESSACEAE				2				2	1	1					50	50				
CUPULIFERAE				3				3		3						100				
CUSCUTACEAE	1							1	1						100					
CYPERACEAE		3			5			8		1	3	3	1			12,5	37,5	37,5	12,5	
DIPSACACEAE		1						1		1						100			100	
DROSERACEAE		1						1					1							
EBENACEAE				2				2		1	1					50	50			

(Segue Tabella I)

FAMIGLIE	FORME BIOLOGICHE							TOTALE	RESISTENZA o SUSCETTIBILITA' delle SPECIE						% della RESISTENZA o SUSCETTIBILITA' delle SPECIE					
	Th	H	Ch	Ph	G	Hy	E-A		RR	R	RS	SR	S	SS	RR	R	RS	SR	S	SS
EQUISETACEAE			1					1			1						100			
ERICACEAE				1				1				1						100		
EUPHORBIACEAE	4	1	1					6	2	2	2				33,3	33,3	33,3			
GERANIACEAE	6	1						7		3	4					43	57			
GESNERIACEAE						1		1				1						100		
GRAMINACEAE	40	14		1	6			61	17	41	3				27,9	62,3	9,8			
HYDROCHARITACEAE	2	7	10					19		5	5	8	1			26,25	26,25	42	5,25	
IRIDACEAE				1				1		1						100				
JUGLANDACEAE	23	4	4	6	1			38		3	12	9	14			8	31,5	23,7	36,8	
JUNCACEAE						4		4						4						100
LABIATAE			1	1	18			20	4	5	5	4	2		20	25	25	20	10	
LARDIZABALACEAE			2					2				1	1					50	50	
LEGUMINOSAE							1	1		1						100				
LEMNACEAE						2		2			1		1				50		50	
LILIACEAE					13			13	2	5	4	2			15	38,5	31,5	15		
LINACEAE				2				2			1	1					50	50		
LORANTHACEAE		1						1			1						100			
MALVACEAE			1	1				2			1		1				50		50	
MAGNOLIACEAE				2				2		2						100				
MARSILIACEAE							2	2				1	1					50	50	
MARTYNIACEAE	1							1				1						100		
MIMOSACEAE				2				2				1	1					50	50	
MOLLUGINACEAE	1							1					1						100	
MONIMIACEAE				1				1		1						100				
MUSACEAE				2				2			1	1					50	50		
MYRTACEAE				3				3		2		1				66,6		33,3		
NYMPHEACEAE						3		3				1	2					33,3	66,6	
OENOTHERACEAE	1							1				1						100		
OLEACEAE				5				5		2	2	1				40	40	20		
ONAGRACEAE	1		1					2				1	1					50	50	
ORCHIDACEAE					2		2	4		2	2					50	50			
PALMAE				1				1	1						100					
PAPAVERACEAE	6	2						8	1	1	2	2	2		12,5	12,5	25	25	25	
PARONYCHIACEAE	1							1		1						100				
PHYTOLACCACEAE			1					1		1						100				
PLANTAGINACEAE		3						3		1	1	1				33,3	33,3	33,3		

(Segue Tabella I)

FAMIGLIE	FORME BIOLOGICHE							TOTALE	RESISTENZA o SUSCETTIBILITA' delle SPECIE						% della RESISTENZA o SUSCETTIBILITA' delle SPECIE					
	Th	H	Ch	Ph	G	Hy	E-A		RR	R	RS	SR	S	SS	RR	R	RS	SR	S	SS
PLUMBAGINACEAE			2					2		2						100				
PODALIACEAE	1							1					1						100	
POLEMONIACEAE	2							2				2						100		
POLYGONACEAE		4						4		1	2	1				25	50	25		
POLYPODIACEAE		1			3			4			3	1					75	25		
PONTEDERIACEAE						2		2					2		—				100	
PORTULACACEAE	1							1		1						100				
POTAMOGETONACEAE						2		2					2						100	
PRIMULACEAE	1	4						5				2	3					40	60	
RANUNCOLACEAE	4	5		1	7			17		6	6	5				35,3	35,3	29,4		
RESEDACEAE			1					1			1						100			
ROSACEAE		1	2	14				17		3	8	5	1			18	48	30	6	
RUBIACEAE	1	2	1	7				5		1	3	1				20	60	20		
RUTACEAE			2	1				9		4	3	2				42,5	34,5	23		
SALVINIACEAE					1			1					1						100	
SAPINDACEAE				1				1			1						100			
SAXIFRAGACEAE		1	3	1				5				5						100		
SCROPHULARIACEAE	10	9	1	1				21		4	5	7	5			19	23,6	33,8	23,6	
SOLANACEAE	4		5	1	1			11				5	4	2				45,5	56,5	18,2
STERCULIACEAE				1				1				1					—	100		
TAMARICACEAE				1				1		1						100				
THYPHACEAE					1			1			1						100			
UMBELLIFERAE	1	9						10			6	4					60	40		
URTICACEAE	1	1	1	6				9		2	4	2	1			22,2	44,5	22,2	11,1	
VALERIANACEAE	1			1				2			1	1					50	50		
VERBENACEAE			1					1			1						100			
VIOLACEAE					3			3				2	1					66,6	33,3	

Volendo ulteriormente riassumere i dati per categorie, si può costruire la seguente tabella:

TABELLA II

RIASSUNTO NELLE CINQUE CATEGORIE CIRCA LA RESISTENZA O SUSCETTIBILITA' DELLE SPECIE AL «2,4-D», SECONDO LE FORME BIOLOGICHE

Cifre assolute

	RR	R	RS	SR	S	SS	
Th	16	50	21	39	31	3	160
H	7	22	36	32	16		113
Ch	4	12	25	20	5		66
Ph	7	39	29	20	3		98
G	6	19	23	14	6		68
Hy			1	2	8	5	16
E.A		3	2				5
	40	145	137	27	69	8	526

Percentuali (%)

	RR	R	RS	SR	S	SS
Th	10	31	13	24	20	2
H	6,1	19,5	31,9	28,4	14,2	
Ch	6	18,2	37,9	30,3	7,6	
Ph	7,3	39,7	29,5	20,4	3,5	
G	9	28	33,5	20,5	9	
Hy			6,2	12,5	50,1	31,2
E.A		60	40			

Si prestano meglio all'analisi questi stessi dati, qualora siano aggregati in sole tre categorie: piante resistenti ($RR + R$); piante intermediarie ($RS+SR$); piante suscettibili ($S+SS$), come segue:

TABELLA III

RIASSUNTO IN TRE CATEGORIE CIRCA LA RESISTENZA O SUSCETTIBILITA' DELLE SPECIE AL «2,4-D» SECONDO LE FORME BIOLOGICHE

	Piante resist. N.	Piante interm. N.	Piante suscett. N.	TOTALE	Piante resist. %	Piante interm. %	Piante suscett. %
Th	66	60	34	160	41	37	22
H	29	68	16	113	25,6	60,3	14,2
Ch	16	45	5	66	24,2	68,1	7,6
Ph	46	49	3	98	47,0	49,9	3,5
G	25	37	6	68	37,3	53,7	9
Hy		3	13	16		18,7	81,3
E.A	3	2		5	60	40	
	185	264	77	526			

Le terofite si distribuiscono con una certa regolarità tra le piante resistenti, intermediarie e suscettibili, con quest'ordine di frequenza, da maggiore a minore, quando si sarebbe anche potuto pensare il contrario. E' perfettamente logico, invece, che nelle emicriptofite dominino le piante a resistenza intermediaria, seguendo, per frequenza, quelle resistenti, ed infine le suscettibili, date le caratteristiche delle piante stesse. E' pure atteso che le camefite abbiano uno stesso comportamento, con una accentuazione, anzi, nella frequenza dell' intermediarietà di attitudine. Nelle fanerofite si ha, per la quasi totalità delle piante studiate, una metà delle specie che sono resistenti e una metà che sono intermediarie; quasi nulle sono quelle suscettibili. Tra le geofite oltre la metà è data da specie a comportamento intermediario, cui seguono le resistenti, minimo essendo il numero delle specie suscettibili. Tra le idrofite mancano le specie resistenti, la grandissima maggioranza essendo data da piante suscettibili, e da un certo numero di specie a comportamento intermediario, come ci si poteva attendere. Le forme epifite arboricole sono così limitate da essere arduo trarne delle deduzioni.

In conclusione, il fattore resistenza al « 2,4-D » e derivati pare essere connesso con la presenza di gemme protette, che sono così sottratte alla azione *diretta* del composto chimico, ciò che permette una ripresa di vegetazione degli individui se la quantità del diserbante assorbita e traslocata è inferiore alla dose mortale. Quest'ultimo fattore, invece, subordina, da solo, la resistenza o suscettibilità delle terofite, piante che svolgono l'intero loro ciclo biologico nel corso di una stagione.

SOMMARIO

L'analisi di 526 specie di piante spontanee e coltivate rispetto al loro comportamento di fronte al « 2,4-D » porta a concludere che le idrofite sono per la maggior parte suscettibili; le terofite quasi egualmente ripartite tra suscettibili ed intermediarie, mentre le specie delle altre forme biologiche sono ripartite tra suscettibili ed intermediarie. Ciò pare subordinato alla presenza di gemme comunque protette, e alla capacità di assunzione e traslocazione del « 2,4-D », i due fattori agendo indipendentemente nel determinare la resistenza o la suscettibilità delle specie.

SUMMARY

The behaviour of 526 species of cultivated and wild plants, as related to « 2,4-D », has been summarized. Most of hydrophytes are susceptible and the therophythes susceptible or intermediary; most of other biological forms are resistant or intermediary. Resistance or susceptibility are apparently related with the presence of protected buds, as well as to assumption and translocation of the chemical product, both factors being indipendent in determining the resistance or susceptibility.

Pavia, Istituto Botanico dell'Università, Luglio 1950.

Formule per la correzione della percentuale di mortalità nelle spore

F. BERTOSSI, R. CIFERRI

Il metodo di controllo di prodotti anticrittogamici si basa, essenzialmente, sulla percentuale di germinazione di spore di funghi testi in presenza di soluzioni successivamente diluite della sostanza ad azione fungicida. Tutte le condizioni sono standardizzate in modo da avere sempre dati comparabili; tali dati, opportunamente corretti, vengono quindi espressi graficamente con uno dei vari metodi statistico-biologici proposti.

Sino ad oggi si è tenuto conto, fondamentalmente, del rapporto percentuale *spore germinate/spore non germinate* (*sopravvivenza/mortalità*) oppure del rapporto *spore germinate/totale spore in studio,* pur introducendo tutte le correzioni opportune in rapporto alla mortalità del testimonio ed alla mortalità dovuta ad una soluzione « standard » (CIFERRI e coll. 1943 e 1945; MC CALLAN; 1948; ecc.).

Non si è però mai tenuto conto dello sviluppo del tubulo germinativo che emettono le spore e che indubbiamente è subordinato alla natura e all'azione dell'agente tossico, a parità di altre condizioni.

In altri termini noi possiamo avere due composti, entrambi permettenti la germinazione del 50 % delle spore, ma uno dei quali permette solo uno sviluppo molto ridotto dei tubuli germinativi e l'altro uno sviluppo abbondante. Fra i due composti vi è senza dubbio una differenza, ma non ci consta che qualcuno abbia indicato sinora come valutarla.

Abbiamo anzitutto stabilito tre valori arbitrari da attribuirsi alla lunghezza dei tubuli, assegnando valore 1 e 3 rispettivamente ai tubuli di scarso e forte sviluppo e valore 2 ai tubuli di sviluppo medio. Questa arbitraria suddivisione è d'uso corrente in valutazioni del genere, in quanto subordinata alle caratteristiche intrinseche del fungo teste e valutabile secondo l'esperienza acquisita dall'osservatore.

Siamo partiti dal concetto che per ogni sopravvivenza s vi deve essere una lunghezza l (s) dei tubuli *normale* per quella sopravvivenza; cioè ad es. l (s) dovrebbe essere massima $(= 3)$ per una s massima $(= 1)$ e

$l(s) = 0$ per una $s = 0$. E' evidente che una mortalità m non va corretta se la lunghezza media l_m dei tuboli delle spore germinate (calcolata sul totale delle spore sopravvissute) ha un valore uguale ad $l(s)$ concepito, come abbiamo detto, come normale rispetto alla percentuale di sopravvivenza.

In altri termini per un valore di $s = 1$ è da ritenersi normale un grande sviluppo dei tuboli delle spore germinate e si può quindi presumere che in questo caso $l(s)$ sia uguale a 3 e quindi per una $l_m = 3$ non si dovrebbe eseguire alcuna correzione; d'altra parte uno sviluppo piccolo di parte dei tuboli delle spore deve far pensare ad un'azione dell'anticrittogamico (o comunque dell'agente della mortalità) diversa da quella espressa da una $m = 0$.

Si tratta in primo luogo di decidere il valore della funzione $l(s)$. A tale scopo dobbiamo osservare:

1) per $s = 1$ (quindi $m = 0$) non può esservi correzione di mortalità nel senso di una diminuzione perchè ciò porterebbe ad una mortalità negativa. Il valore di m dovrà aumentare solo per uno sviluppo medio dei tuboli inferiori al massimo (3) che deve ritenersi come valore normale per una $s = 1$. Posso quindi scrivere l'identità:

$$l(1) = 3$$

2) è ovvio che $l(s)$ decresce con il decrescere di s e quindi per $s \to 0$ si avrà

$$3 > l \geqslant 0$$

3) se si ammette che ogni sviluppo non estremamente esiguo di individui sopravvissuti per una m molto vicina ad 1 sia da ritenersi supernormale, sembrerebbe esatto assumere come lunghezza dei tuboli normale a mortalità massima, e quindi a $s = 0$ il valore

$$l(0) = 0$$

Si è quindi indotti a pensare che il grafico della funzione $l(s)$ passi per i punti di ordinata 3 e 0 e di ascissa 0 e 1 (valore di m) oppure 1 e 0 (valori di s).

L'ipotesi più semplice è che esso sia rappresentato da un segmento retto passante dai punti 3-0 e 0-1. Perciò la funzione si può scrivere:

$$l(s) = 3s \qquad [1]$$

Ma se si tiene conto che la correzione m_1 da applicare ad m deve essere commisurata ad l_m e più precisamente allo scarto tra lo

sviluppo teorico normale dei sopravvissuti e lo sviluppo medio relativo $[l(s) - l_m]$ e che di questo scarto ha interesse il rapporto con $l(s)$ e che inoltre al valore della correzione

$$m_1 = \frac{l(s) - l_m}{l(s)}$$

va dato un peso commisurato alla percentuale di spore germinate, il termine correttivo può scriversi:

$$m_1 = \frac{l(s) - l_m}{l(s)} s \qquad [2]$$

Indicando con M la mortalità corretta, sarà:

$$M = m + m_1$$

$$M = m + \frac{l(s) - l_m}{l(s)} s \qquad [3]$$

Se ora sostituisco la [1] nella [3] ottengo:

$$M = m + \frac{3s - l_m}{3s} s$$

$$M = m + \frac{3s}{3} - \frac{l_m}{3}$$

e, essendo $m + s = 1$

$$M = 1 - \frac{l_m}{3} \qquad [4]$$

e quindi, indicando con S la sopravvivenza corretta

$$S = \frac{l_m}{3}.$$

Si presenta però un inconveniente che dimostra come la formula [1] della funzione $l(s)$ sia troppo semplice. Infatti nel caso di una m abbastanza alta e di una $l_m = 3$ si otterrebbe

$$M = 1 - \frac{3}{3}$$

$$M = 0$$

con una correzione evidentemente esagerata nel senso di una troppo forte valutazione degli individui sopravvissuti.

E' necessaria quindi una migliore valutazione di $l(s)$ per valori di s molto piccoli ed in generale occorre attenuare il peso della correzione per valori di s piccoli e valori di l_m molto grandi, sopravalutando ogni svi-

luppo per valori di s grandi e sottovalutando ogni sviluppo per mortalità elevate. Si può quindi prendere come funzione l (s) il segmento della parabola passante per i punti 3-0 e 0-1, avente vertice in 0-1.

Perciò la formula definitiva della funzione l (s) sarà:

[5] $$l\,(s) = 3\sqrt{s}$$

sostituendo ora la [5] nella [3] si ha:

$$M = m + \frac{3\sqrt{s} - l_m}{3\sqrt{s}}\, s$$

$$M = m + \frac{3\sqrt{s} - l_m}{3}\sqrt{s}$$

$$M = m + s - \frac{l_m}{3}\sqrt{s}$$

[6] $$M = 1 - \frac{l_m}{3}\sqrt{s}$$

[7] $$S = \frac{l_m}{3}\sqrt{s}$$

Naturalmente la [6] può applicarsi anche ed anzi meglio, quando si abbiano lunghezze di tuboli effettivamente misurate. In questo caso la [6] diviene

[8] $$M = 1 - \frac{l_m}{L}\sqrt{s}.$$

ove L è la lunghezza massima raggiungibile.

Nel caso si usi esprimere s ed m in percentuali, le formule andranno scritte rispettivamente:

$$M\,\% = 100 - \frac{l_m}{3}\sqrt{s\,\% \cdot 100}$$

[9] * $$M\,\% = 100 - 10\,\frac{l_m}{3}\sqrt{s\,\%}$$

[10] $$M\,\% = 100 - 10\,\frac{l_m}{L}\sqrt{s\,\%}$$

e quindi la [7] sarà così trasformata:

$$S\,\% = 10\,\frac{l_m}{3}\sqrt{s\,\%}$$

(*) Di questa formula venne già data anticipazione alla *V.ème Conference Internationale des Engrais Chimiques et Produits Chimiques Utiles à l'Agriculture*, Zurigo (4-8 agosto 1949).

Riportiamo qui di seguito un esempio di applicazione pratica:

N.	Diluizione	s	Numero tubuli germinativi corti ($l = 1$)	mediani ($l = 2$)	lunghi ($l = 3$)	m	M
	Prodotto A						
1	16 % Cu	0,01	1	—	—	0,99	0,967
2	8 % Cu	0,02	2	—	—	0,98	0,953
3	4 % Cu	0,04	3	1	—	0,96	0,917
4	2 % Cu	0,22	16	4	2	0,78	0,787
5	1 % Cu	0,48	32	12	4	0,52	0,670
	Prodotto B						
6	16 % Cu	0,30	6	16	8	0,70	0,625
7	8 % Cu	0,45	12	18	15	0,55	0,540
8	4 % Cu	0,76	22	30	24	0,24	0,418
9	2 % Cu	0,81	24	25	32	0,19	0,371
10	1 % Cu	0,90	10	70	10	0,10	0,369

Un esempio teorico, per valori estremi puramente ipotetici di s può essere il seguente:

s	Numero tubuli germinativi corti ($l = 1$)	medi ($l = 2$)	lunghi ($l = 3$)	m	M
0,01	1	—	—	0,99	0,967
0,01	—	1	—	0,99	0,934
0,01	—	—	1	0,99	0,900
0,99	99	—	—	0,01	0,669
0,99	—	99	—	0,01	0,338
0,99	—	—	99	0,01	0,006

Anche per valori medi di s la M assume valori accettabili:

s	Numero tubuli germinativi			m	M
	corti ($l = 1$)	medi ($l = 2$)	lunghi ($l = 3$)		
0,50	50	—	—	0,50	0,765
0,50	—	50	—	0,50	0,528
0,50	—	—	50	0,50	0,294

Allo scopo però di attenuare le correzioni nel senso di dare una maggiore importanza a s diminuendo quella di l_m, abbiamo tentato di perfezionare la formula.

In primo tempo abbiamo sostituito ad l_m (lunghezza media calcolata sul totale delle spore germinate) il valore l_{mt} (lunghezza media del tubulo germinativo calcolata sul totale delle spore in studio, nel nostro caso uguale a 100). La formula diverrebbe:

[11] $$M = 1 - \frac{l_{mt}}{3} \sqrt{s}$$

con però un troppo forte ridursi di S.

Si è allora tentato di trasformare la [11] tenendo presente che:

$$l_m = \frac{l_{mt}}{s}$$

$$l_{mt} = l_m \cdot s$$

e, sostituendo nella [11]

$$M = 1 - \frac{l_m \cdot s}{3} \sqrt{s}$$

$$M = 1 - \frac{l_m \cdot s^2}{3s} \sqrt{s}$$

[12] $$M = 1 - \frac{l_m}{3s} s^{5/2}$$

e quindi

[13] $$S = \frac{l_m}{3s} s^{5/2}$$

Nella [12] è stato così messo in evidenza il fattore

$$F = \frac{l_m}{3s}$$

che ha il significato di rapporto fra la lunghezza media relativa dei tubuli delle spore germinate e la sopravvivenza s.

Dato le premesse esposte all'inizio di questa nota si può pensare di assumere come valore *normale* di questo rapporto l'unità, valendo la presunzione che una forte mortalità comporti un piccolo sviluppo dei tubuli germinati (ad esempio per $s = \frac{1}{3}$ sarebbe normale $l_m = 1$ mentre per $s = 0{,}50$ si dovrebbe avere il valore $l_m = 1{,}5$.

Volendo utilizzare una formula più generale e che lasci più libertà all'operatore di concedere a suo giudizio maggiore importanza ad s che non ad l o viceversa, la [12] può essere scritta

$$M = 1 - \left(\frac{l_m}{3s}\right)^{\alpha} s^{\beta}$$

$$M = 1 - F^{\alpha} s^{\beta} \qquad [14]$$

e quindi

$$S = F^{\alpha} s^{\beta}$$

dove α e β sono costanti da precisare.

Poichè bisogna supporre che, quando il fattore di correzione F ha il valore normale 1, la mortalità corretta ha lo stesso valore di quella effettiva, e quindi si verifica l'identità

$$M = m = 1 - s$$

bisogna assumere l'unità come valore di β.

Dal valore di α dipende il peso che viene attribuito al fattore F nella correzione di mortalità. Se si desidera che tale correzione risenta relativamente poco degli scostamenti di F dal suo valore normale 1, occorre prendere α (positivo) sensibilmente inferiore ad 1 e quindi

$$\alpha = \frac{1}{n}$$

dove n rappresenta un numero intero e positivo.

Con ciò la [14] diventa

$$M = 1 - s\,F^{1/n}$$

$$M = 1 - s\sqrt[n]{\frac{l_m}{3s}} \qquad [15]$$

e quindi

$$S = s\sqrt[n]{\frac{l_m}{3s}} \qquad [16]$$

che può esser calcolata facilmente per via logaritmica.

Bisogna quindi scegliere il valore di n a seconda della importanza che si vuole attribuire, a parità di s, ad una lunghezza media l_m abnorme

rispetto al valore $l(s)$. Le correzioni risulteranno pur sempre rilevanti per valori di F molto piccoli o molto grandi rispetto all'unità (poche spore germinate con tubuli lunghi o molte spore germinate con tubuli corti). Questo inconveniente è lo stesso che si verifica con la formula [6], ma bisogna tener conto della natura eccezionale di un tale comportamento che non infirma il valore delle formule ritrovate.

Quale delle due formule [6] e [16] è quindi da usarsi? E, in secondo luogo, quale valore deve essere dato ad n nella [16]?

Non è certamente facile rispondere alle due domande in quanto l'uso di una formula piuttosto che dell'altra dipende sia dalla conoscenza del meccanismo di azione dell'agente tossico, o inibente, che dallo scopo che ci siamo prefissi, come pure del tipo di fungo teste utilizzato.

Se noi siamo in presenza di un agente tossico di cui non conosciamo l'azione sia sulla mortalità che sull'allungamento dei tuboli germinativi (si può verificare benissimo il caso di un agente tossico che pur non impedendo completamente la germinazione, e quindi $m = 0$ permetta solo un debolissimo svilupppo dei tuboli germinativi), sarà opportuno utilizzare la formula [6] mentre la formula [16] sarà più utilmente usata in secondo tempo quando le nostre conoscenze saranno più precise e potremo quindi meglio determinare l'importanza di s e di l_m, e potremo quindi fissare il valore di n tenendo conto della possibilità di costruire una retta di azione basata su numerose diluizioni, tenendo naturalmente fisso il valore di n per tutti i dosaggi relativi ad un solo composto oppure per i dosaggi di vari composti che debbono essere confrontati fra di loro.

Ci è compito gradito il ringraziare vivamente il prof. Luigi Castoldi, della Università di Genova, al quale si devono gli schemi necessari per giungere alle due formule pubblicate in questa nota.

Pavia, Istituto Botanico dell'Università, luglio 1950.

RIASSUNTO

Vengono proposte due formule per la correzione della mortalità delle spore, basate sulla lunghezza del tubulo germinativo.

La prima, di uso generale è

$$M = 1 \quad \frac{l_m}{3} \sqrt{s}$$

ove l_m è la lunghezza media dei tubuli delle spore germinate ed s la sopravvivenza.

La seconda, di uso particolare, è, essendo S la sopravvivenza corretta,

$$S = s \sqrt[n]{\frac{l_m}{3s}}$$

dove *n* rappresenta un numero intero e positivo, piuttosto piccolo, da determinarsi a seconda della importanza che si vuole attribuire alla lunghezza del tubulo germinativo.

SUMMARY

An additional formula for the correction of spore germinability percentage (following the slide-germination test) has been proposed. It is based on the relative lenght of germination tubes.

LETTERATURA CITATA

CIFERRI R. - In *Comitato Organizzatore per la partecipazione italiana alla V.ème Conference Internationale des Engrais Chimiques et Produits Chimiques Utiles à l'Agriculture*: Relazioni Nazionali, Roma, 1949, pp. 91-110.

CIFERRI R., BALDACCI E., BARBENSI E., CAVALLI L., GALLINA G. (1943) - Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia, Ser. V, 1, 84-214.

CIFERRI R., BALDACCI E., CAVALLI L. e GALLO V. (1945) - Ibid., ser. V, 5, 1-185.

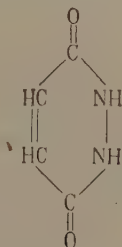
MC CALLAN S.E.A. (1948) - Contr. Boyce Thompson Inst., **15**, 71-75.

(Rimandiamo a questi lavori per la bibliografia sull'argomento, in particolare ai lavori di CIFERRI R. e collaboratori).

L'IDRAZIDE MALEICA COME FITORMONE

F. BERTOSSI

SCHOENE e HOFFMANN (1949) hanno dimostrato recentemente che l'idrazide maleica (1,2-diidropiridazina-3,6-dione)

```
        O
        ‖
        C
      /   \
    HC     NH
    ‖      |
    HC     NH
      \   /
        C
        ‖
        O
```

(CURTIUS e coll., 1895) è capace di inibire transitoriamente ma evidentemente la crescita delle piante, che mostrano poi una susseguente ripresa senza visibili effetti dannosi; la sua efficacia è proporzionale alla concentrazione.

Gli AA. sopracitati riportano che piante di pomodoro, nebulizzate con soluzioni di idrazide maleica a concentrazioni variabili da 2000 a 500 p.p.m. (parti per milione - milligrammi per litro) mostravano una sospensione nella crescita anche delle radici durante circa due mesi, con susseguente ripresa ad opera specialmente delle gemme laterali; sospensioni a 10.000 p.p.m. non produssero effetti tossici diretti. Risultati simili si ebbero anche con sali dell'idrazide maleica maggiormente solubili; fatti inibitori vennero riscontrati nella crescita di varie graminacee prative nebulizzate con sospensioni di idrazide maleica ed un ritardo sulla crescita si ebbe nei germinelli di mais per trattamento del suolo alla semina delle cariossidi.

Qualche mese più tardi CURRIER e CRAFT (1950) hanno dato notizia delle caratteristiche dell'idrazide maleica (sotto forma di sale dietanolaminico) quale diserbante selettivo chimico. Piante di orzo nebulizzate con una soluzione a 2000 p.p.m. arrestarono immediatamente la crescita e le foglie divennero verde scuro disseccando a cominciare dall'apice; la morte sopravvenne dopo circa 6 settimane dal trattamento. Anche altre graminacee mostrarono le stesse reazioni e sopravvissero solo se adulte.

Al contrario piante di cotone non parvero risentire del trattamento, salvo nel caso di germinelli con le sole foglie cotiledonari, che vennero fortemente inibite nella crescita.

Ancora più recentemente (Maggio 1950) ZUKEL riassume in una nota anche altri lavori che non ci sono noti negli originali al momento in cui scriviamo; WHITE e KENNARD (1950) riscontrarono un temporaneo arresto di crescita delle fragole e dei rovi da more e KNOTT (1950) dei germogli di *Pyracantha*. MILLER e ERSKINE (1949) riportarono fatti inibitori sulla fruttificazione di *Gingko* e NAYLON (1950) bloccò per mezzo dell'idrazide maleica lo sviluppo delle gemme ascellari del tabacco e produsse mais a maschio sterile con spiga normale.

Le esperienze di ZUKEL (1950) ebbero luogo su piante di pomodoro, di fagiolo e di varie graminacee. Sul pomodoro accertò che, dopo una nebulizzazione alla concentrazione di 2500 p.p.m., « un terzo della sostanza chimica era stata assorbita dalle piante entro 18 ore ». Germinelli di fagiolo soffrirono di una inibizione di tutte le gemme anche alla concentrazione di 600 p.p.m. mentre a 300 p.p.m. solamente la crescita terminale fu inibita avendosi una accelerazione nella crescita dei germogli laterali. Gli effetti sulle graminacee furono diversi: *Lolium perenne* e *Digitaria sanguinalis* vennero uccisi entro un mese dal trattamento mentre il prodotto non ebbe alcun effetto su *Poa pratensis, Festuca rubra* var. *commutata* ed altre graminacee del genere *Festuca*.

Anche *Sorghum halepense* fu portato a morte dopo nebulizzazione a 2500 p.p.m. di idrazide maleica; altre graminacee rimasero verdi ma crebbero lentamente e non produssero rizomi oppure non giunsero a fruttificazione.

Giovani germinelli di *Agropyron repens* furono uccisi a concentrazioni di 2500 p.p.m. mentre piante più adulte rimasero verdi senza sviluppare normali rizomi; *Cyperus rotundus* morì impiegando la dose di 5.000 p.p.m.

In esperimenti in campo su parcelle di pomodori adulti nebulizzati allorchè portavano i frutti verdi con dosi di 300 e 3.000 p.p.m., si riscontrò solamente una precoce maturazione del frutto senza particolari altri effetti. Alla dose maggiore vi fu una inibizione della crescita terminale del fusto ma una accelerazione della crescita dei germogli laterali e formazione di fiori sui rami secondari; alla dose minore non si ebbero effetti sensibili.

Pure piante di patata non ebbero alcuna reazione al trattamento con idrazide maleica ma i relativi tuberi, con dosi di 3.000 p.p.m., non germogliarono. Una razza orticola di fagiolo ebbe piante nane dapprima di color verde scuro quindi clorotiche e rugose: le piante non giunsero a fiori-

tura. Se però il trattamento veniva eseguito su piante di fagiolo aventi già formato i baccelli, esse non risentivano alcun danno. La dose di 250 p. p. m. fu invece praticamente letale per il mais, mentre piante di soia rimasero nane ma viventi e fenomeni di nanismo vennero rilevati pure sul cavolo-rapa, ecc. con clorosi e ritardo nella fioritura ma con frutti normali. Piante di anguria e di melone, benchè particolarmente sensibili, non risentirono che transitoriamente di un trattamento con sale dodicilaminico dell'idrazide maleica alla dose di 2.500 p.p.m. mentre il sale dietanolaminico non diede alcun risultato.

RICERCHE PRELIMINARI

Da questo rapido esame della letteratura risulta che l'idrazide maleica ha delle interessanti, ma apparentemente in parte contrastanti, caratteristiche; ad es. si ha una selettività che si spinge sino al genere se non sino alla specie delle piante trattate con effetti che vanno da nulli a mortali attraverso una inibizione temporanea della crescita senza altre conseguenze; una sterilità parziale o totale, o semplicemente un ritardo nella fioritura, o addirittura una accelerazione della maturazione delle frutta; una inibizione totale delle gemme o una inibizione localizzata alla gemma apicale con eventuale risveglio ed accelerazione di crescita di quelle laterali; l'inibizione di alcune forme di riproduzione vegetativa; formazione di antociani, depigmentazione oppure iscurimento delle foglie, ecc.. Tutto ciò con una influenza da parte dell'età della pianta forse ancora maggiore di quanto non si abbia per altri fitormoni o discerbanti chimici selettivi.

Se ciò — teoricamente almeno — fa prevedere notevoli e diverse applicazioni pratiche, male si presta ad inquadrare l'idrazide maleica nella pur molto eterogenea categoria dei fitormoni sintetici, almeno per gli esempi che se ne hanno sino a oggi.

Ci è parso quindi opportuno osservare preliminarmente se, e sino a qual limite, l'idrazide maleica presentava, ad alcuni usuali testi più precisi di quelli usati dagli AA. americani, le caratteristiche generali degli ormoni di crescita.

A questo scopo si sono effettuate le prove seguenti:

1) Immersione di parti aeree di piante di pomodoro in soluzioni progressivamente diluite di idrazide maleica.

2) coltura di piante di pomodoro in soluzione minerale con dosi progressivamente decrescenti di idrazide maleica.

3) Teste « moltiplicazione fronde » su *Lemma minor* e su *Spirodela polyrrhiza*.

4) Teste di MACHT sul lupino bianco.

5) Azione callogena su frammenti di fusto di *Parthenocissus tricuspidata* var. *Veitchii* coltivati in vitro.

6) Azione callogena su frammenti di tubercoli di *Helianthus tuberosus* coltivati in vitro.

1) *Immersione di parti aeree di piante di pomodoro in soluzioni progressivamente diluite di idrazide maleica.*

Piante di pomodoro (fatte crescere in vaso all'aperto da trapianto di germinelli) di circa 8 settimane di età furono estratte dalla miscela di terra e sabbia in cui erano coltivate e le radici ripulite in corrente d'acqua avendo cura di non produrre lesioni; furono scelte accuratamente piante di eguale taglia e vigoria. A parte si sono preparate soluzioni, progressivamente diluite nel rapporto 1 : 2, di idrazide maleica in acqua di rubinetto partendo da una soluzione a 2000 p.p.m..

Invece di nebulizzare come si fa ordinariamente la parte aerea delle piante, e seguendo una tecnica che ormai usualmente impieghiamo con buoni risultati nei nostri laboratori (CIFERRI e BERTOSSI, 1950), abbiamo immerso rapidamente tutta la parte aerea della pianta, escluso quindi la porzione radicale, in larghi bicchieri cilindrici contenenti le soluzioni di idrazide maleica, sgocciolando rapidamente l'eccedente di liquido con un colpo brusco della mano; ognuna delle piante venne quindi messa a vegetare in un grosso tubo da saggio contenente soluzione di Knop diluita a metà. Per ognuna delle concentrazioni si sono avute cinque ripetizioni (dieci per i testimoni) e le provette sono state disposte in modo che potessero essere illuminate uniformemente dal sole (circa 6 ore d'insolazione diretta) in una finestra del laboratorio. Una ispezione quotidiana durante 12 giorni registrò le modificazioni passeggere delle foglie di ognuna delle piante trattate rispetto ai testimoni e riportò ogni giorno al volume primitivo la soluzione nutritizia mediante aggiunta di acqua distillata.

All'osservazione diretta non si ebbe alcuna differenza di crescita tra le piante testimoni e le piante asperse con idrazide maleica. Le differenze

(1) L'idrazide maleica ci è stata gentilmente fornita dal Prof. G. B. Bonino, Direttore degli Istituti di Chimica dell'Università di Bologna, che ci è gradito ringraziare vivamente.

più sensibili sono apparse nel fatto che, mentre alla fine dell'esperienza le piante testimoni mostravano gli abbozzi delle gemme fiorali, questi non erano apparsi nelle piante trattate con le prime due concentrazioni (2000 e 1000 p.p.m.). In nessun caso si è avuto cambiamento di colore delle foglie delle piante, o malformazioni fogliari, o anomalie nello sviluppo delle gemme apicali o laterali.

Si è però avuta una reazione fugace con appassimento piuttosto marcato, benchè irregolare, nelle foglie delle piante asperse con idrazide maleica, che in qualche caso è giunto sino all'avvizzimento e al disseccamento di qualche foglia.

2) *Coltura di piante di pomodoro in soluzione nutritizia minerale con dosi progressivamente decrescenti di idrazide maleica.*

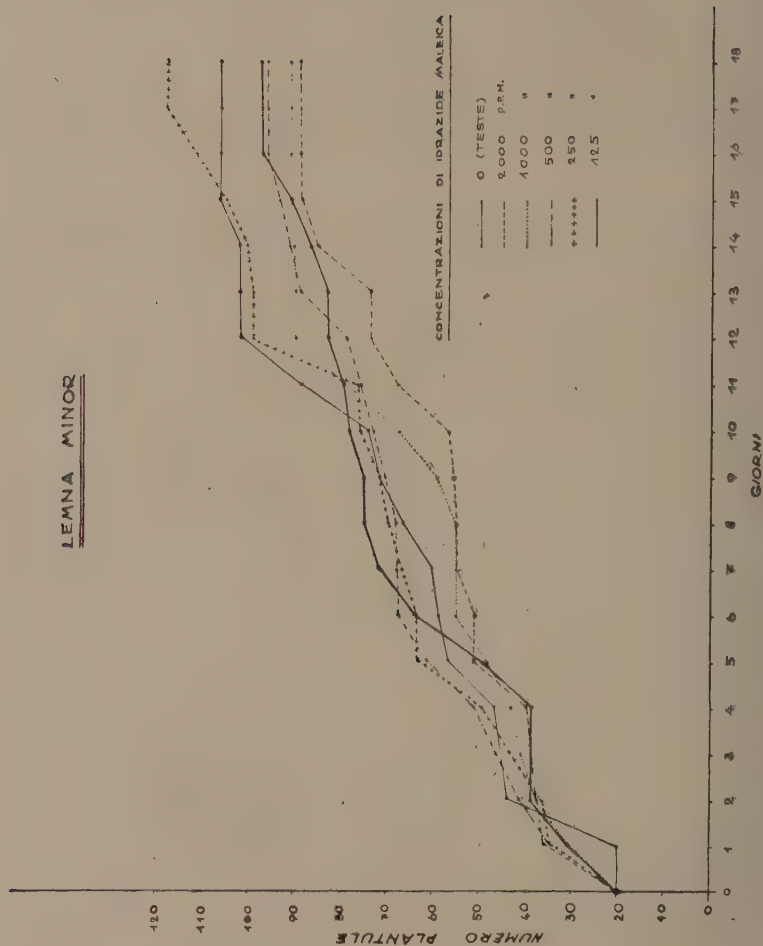
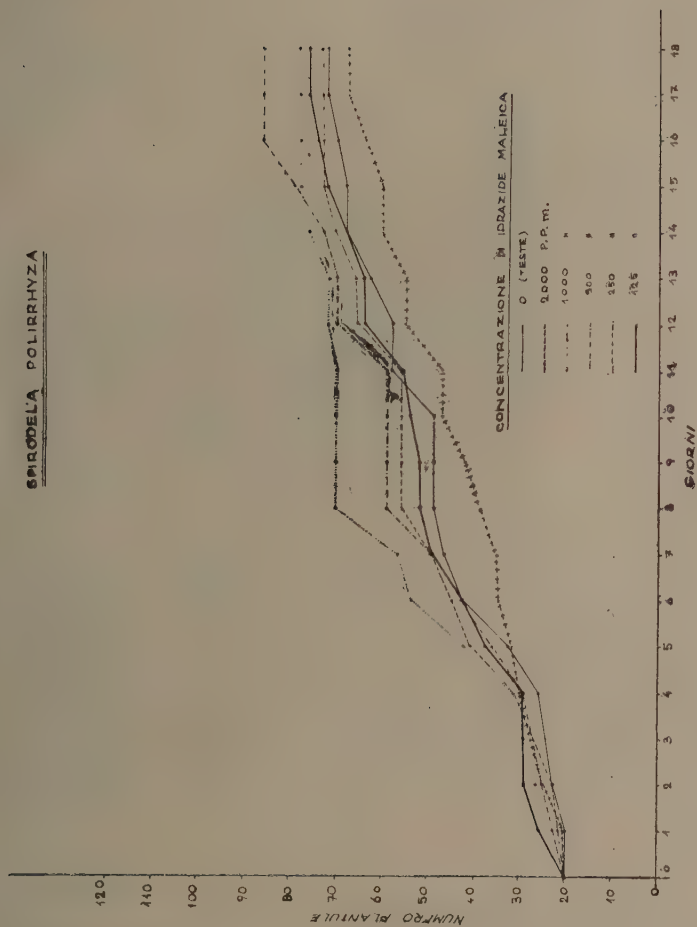
Piante di pomodoro dello stesso lotto delle precedenti sono state messe a vegetare in tubi da saggio con soluzione di Knopp diluita a metà e contenente dosi variabili secondo il rapporto 1 :2 da 1000 p.p.m. a 62,5 p.p.m. di idrazide maleica. Le condizioni di cultura e di esposizione sono state identiche a quelle dell'esperienza precedente; anche in questo caso il liquido contenuto nei tubi venne ogni giorno riportato a volume con acqua distillata. Numero di piante per diluizione e di testimonio eguale al saggio precedente.

Alla fine delle osservazioni (12 giorni), statura delle piante, colore e conformazione delle foglie non differivano per le piante coltivate in soluzione di idrazide maleica da quelle dei testimoni coltivati in semplice soluzione di Knop diluita a metà. Nei testimoni erano però apparse, alla fine dell'esperienza, le gemme fiorali che mancavano in tutte le serie di piante coltivate in presenza di idrazide maleica. Nei primi quattro giorni dal trapianto si ebbe un marcatissimo appassimento nelle piante trattate con idrazine maleica, molto più sensibile che nei testimoni in cui l'appassimento fu lieve e transitorio. In secondo tempo però tutte le piante si ripresero in modo eguale senza si potesse riscontrare alcuna differenza.

3) *Teste « moltiplicazione fronde » su* Lemna minor *e* Spirodela polyrhiza.

Si è effettuato una doppia serie di esperienze utilizzando il teste « moltiplicazione fronde di Lemna » secondo Gorham (1941) già precedentemente impiegato in questo stesso laboratorio per altre prove (Ciferri e coll., 1947).

LEMNA MINOR
NUMERO PLANTULE
GIORNI
CONCENTRAZIONI DI IDRAZIDE MALEICA
0 (TESTE)
2000 p.p.m.
1000 "
500 "
250 "
125 "

SPIRODELA POLIRRHYZA
CONCENTRAZIONE DI IDRAZIDE MALEICA
0 (TESTE)
2000 P.P.m.
1000
500
250
125
GIORNI
NUMERO PLANTULE

Venti plantule di *Lemna minor* ed altrettante di *Spirodela polyrrhiza* furono poste in grandi cristallizzatori di vetro contenenti soluzioni di idrazide maleica a concentrazioni scalari nel rapporto 1 : 2 da 2000 p.p.m. a 125 p.p.m., con aggiunta di soluzione di SHIVE nella proporzione dell'1 % in volume; l'evaporazione venne ogni giorno compensata con aggiunta di acqua di rubinetto. Giornalmente si computò il numero delle plantule presenti nei cristallizzatori e si notò che dopo cinque giorni cominciava a manifestarsi un irregolare nanismo nelle foglie di *Spirodela polyrrhiza*, la cui superficie si ridusse ad 1/3 e in alcuni casi anche ad 1/4 della superficie delle fronde normali.

Dopo 18 giorni dall'inizio dell'esperienza, non manifestandosi una sensibile attività moltiplicativa delle due piante, vennero raccolti i risultati che riportiamo nei due grafici delle pp. 160 e 161.

Essi portano a concludere quanto segue: per *Lemna minor* malgrado una certa irregolarità, la concentrazione di 250 p.p.m. ha portato ad una moltiplicazione quasi uguale al testimonio ed anche, nello stadio finale, un poco maggiore. Tutte le altre concentrazioni si sono dimostrate leggermente inibitrici, inibizione più manifesta per le soluzioni più concentrate. La concentrazione a 125 p.p.m. sino al decimo giorno non si differenziava dal testimonio poi rimase al disotto accostandosi alle altre.

Le differenze riscontrate sono d'altra parte scarsamente attendibili da un punto di vista statistico.

Per quanto si riferisce alla *Spirodela polyrrhiza* la massima diluizione di 125 p.p.m. ha dato una curva sensibilmente uguale a quella del testimonio mentre è la concentrazione di 250 p.p.m. che ha provocato una attività di moltiplicazione leggermente minore che per il testimonio: tutte le altre concentrazioni hanno attivato leggermente le moltiplicazioni senza che però le differenze siano significative.

Tutto sommato non sembra che l'idrazide maleica abbia una influenza decisamente eccitante o inibitoria sullo sviluppo del teste *Lemna*. Le differenze sono molto modeste e di poco eccedenti i possibili scarti individuali.

4) *Teste di* MACHT *sul* Lupinus albus.

Il saggio venne eseguito secondo le condizioni standardizzate già esposte in altro lavoro (CIFERRI e BERTOSSI 1949). Data la sensibilità di questo teste si partì da concentrazioni di molto inferiori che per i saggi precedenti (da 58 p.p.m. a 0,226 p.p.m.). I dati, relativi al solo indice fitotossico, sono riassunti nella seguente tabella 1.

Tabella I
INDICI FITOTOSSICI E RADICHETTE LATERALI DI GERMINELLI
DI *LUPINUS ALBUS* AL TESTE DI MACHT

Giorni	Concentrazioni di idrazide maleica in p. p. m.									
	0	58	29	14,5	7,25	3,625	1,812	0,906	0,453	0,226
	Valori dell' indice fitotossico									
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
1	100	91	97	97	100	101	100	100	99	100
2	100	90	98	100	99	100	100	100	100	101
3	100	83	96	101	100	99	100	100	100	100
4	100	83	96	100	101	99	100	101	100	100
5	100	82	95	100	100	100	100	100	100	100
6	100	82	97	100	101	100	100	100	100	100
	Numero medio per germinello di radichette laterali									
6	10	0	4	13,8	22,7	24,2	13,2	15,9	15	14

E' facile constatare, dall'esame della tabella, come l'idrazide maleica si comporti come una sostanza semplicemente e leggermente tossica. Alle due concentrazioni più forti ($P < 0{,}01$) i germinelli denunciano una lunghezza minore, quasi esclusivamente a carico della porzione radicale, senza alterazioni macroscopicamente visibili. E' caratteristico ed interessante il fatto che l'idrazide maleica, mentre inibisce, alle maggiori concentrazioni, lo sviluppo delle radichette laterali, si comporti poi, col diminuire della concentrazione, come una sostanza rizogena con un massimo a 3,625 p.p.m.

5) *Azione callogena su frammenti di fusto di* Parthenocissus tricuspidata *coltivati in vitro.*

Sono stati coltivati frammenti di circa cm. 1,8 di lunghezza di fusti di *Parthenocissus tricuspidata* var. *Veitchii* seminati su terreno agarizzato contenente sali minerali, glucosio, vitamina B_1, cisteina e concentrazioni di idrazide maleica variabili tra 0 (testimonio) e 10^{-9} a 10^{-5} senza aggiunta di eteroauxina; vennero usati venti espianti per il testimonio e venti per ciascuna diluizione.

I frammenti furono seminati verticalmente in modo tale da invertire la loro posizione normale nella pianta e mantenuti alla luce diurna diffusa ad una temperatura di circa 26° C.

Dopo circa 30 giorni di coltura tutti i frammenti avevano dato origine ad un callo di modeste proporzioni (1), senza però che si potesse notare alcuna differenza sensibile tra i frammenti coltivati senza o con idrazide maleica, eccezion fatta per quelli coltivati su terreno alla concentrazione di 10^{-5} che praticamente non si svilupparono, dimostrando una azione tossica a questa concentrazione da parte del composto in esame.

6) *Azione callogena su frammenti di tubercoli di* Helianthus tuberosus *coltivati in vitro.*

Delle condizioni di coltura in vitro di frammenti di tubercoli di topinambour ha già riferito ampiamente GAUTHERET (1942-43). Noi abbiamo utilizzato prismi di circa cm. 0,5 × 0,5 × 1, provenienti da giovani tubercoli raccolti da qualche settimana, seminati verticalmente in terreno eguale a quello utilizzato per la coltura di *Parthenocissus tricuspidata,* sempre senza eteroauxine e con aggiunta di idrazide maleica alle concentrazioni di 0 (testimonio) e da 10^{-9} a 10^{-5}.

Nessuno degli espianti, dopo 30 giorni, aveva proliferato, se si toglie un sottilissimo strato di parenchima non sempre facilmente rilevabile. Anche in questo caso è mancata qualsiasi azione callogena da parte delle idrazide maleica ed alla concentrazione di 10^{-5} si sono avuti evidenti fenomeni tossici.

CONCLUSIONI

Per quello che appare da queste prime esperienze (e con la riserva che i risultati hanno solo un valore preliminare ed orientativo) si è por-

(1) MOREL (1948) riporta che giovani fusti di *Parthenocissus tricuspidata,* coltivati in terreno minerale glucosato senza eteroauxina non danno affatto origine ad un callo di proliferazione. Noi abbiamo ottenuto un callo che iniziatosi dopo 10-15 giorni, raggiunse dopo un mese discrete proporzioni. Crediamo che il diverso risultato ottenuto da MOREL e da noi possa essere imputato all'età dei fusti utilizzati come pure non è da escludersi che il *Parthenocissus* utilizzato da MOREL appartenga ad una varietà differente dalla nostra. Delle esperienze in corso a questo riguardo, come pure del tipo di callo ottenuto, si riferirà in altra sede.

tati a dedurre che l'idrazide maleica non ha le caratteristiche generali di una eteroauxina quale normalmente intesa, apparendo piuttosto come una sostanza chimica dotata di una molto moderata tossicità sia pure selettiva. Infatti, a parte la sua inefficacia sul pomodoro e sul teste « moltiplicazione fronde » di *Lemna* e *Spirodela* (e a dosi che possono essere considerate massive), la sua curva di attività sul lupino nel teste di MACHT è tipica di una sostanza tossica mancando della caratteristica inversione di azione. Oltre a ciò l'idrazide maleica ha dimostrato di non poter sostituire l'eteroauxina nell'azione sulla proliferazione cellulare in culture in vitro di frammenti di vite vergine e topinambour.

Certamente però, data la sua efficacia nel ritardare l'apparizione delle gemme fiorali del pomodoro e la caratteristica riduzione dell'area delle foglie neoformate in *Spirodela* (e tenendo conto di quanto riferito dagli Autori che si sono occupati dell'argomento), bisogna pure ammettere che questo composto sia capace di interferire con qualcuno dei fatti biologici inerenti alle diverse fasi vitali di qualche specie.

Per quanto riguarda l'effetto sullo sviluppo delle specie da noi studiate è evidente che dati più esaurienti potremo averli con piante specificamente più sensibili di quanto non siano i pomodori e le lemne. Si deve tener conto inoltre che le piante di pomodori erano probabilmente a sviluppo troppo avanzato e come tali forse poco sensibili all'azione della idrazide maleica.

Non bisogna nemmeno però dimenticare, e questo potrebbe spiegare i differenti risultati ottenuti dai vari Autori, che usarono a volte (ad es. ZUKEL, 1950) il composto commerciale, il possibile ruolo giocato da impurezze presenti. E' appunto nostra intenzione saggiare su testi sensibili sia i prodotti di scissione dell'idrazide maleica sia le impurità che l'idrazide maleica commerciale può eventualmente contenere.

Pavia, Istituto Botanico dell'Università, Agosto 1950.

SUMMARY

Adult plants of tomato, growing in Knop solution containing from 1000 to 62,5 p.p.m. of maleic hydrazide, showed only a marked retard to develop flower buttoms without inhibition in growth. The same phenomenon has been observed spraying (by immersion of aerial part) plants of the same species and age with maleic hydrazide from 2000 to 125 p.p.m.

Test of increase in number of individuals of *Lemna minor* and *Spirodela polyrrhiza*, growing in water containing from 2000 to 125 p.p.m. of maleic hidrazide, does not demostrated a significative difference, as compared with test growing in water, but the size of fronds of *Spirodela* where reduced to 1/3 or 1/4.

On seedlings of white lupin, according the Macht test, this compound has been inhibiting the growth up to the conc. of 29 p.p.m.. In addition, the growth of lateral roots has been promoted from 14,5 to 0,226 p.p.m., with an optimal conc. of 3,62 p.p.m.

On tissue cultures of *Parthenocissus tricuspidata* var. *Veitchii* and *Helianthus tuberosus,* the maleic hydrazide as not been able to promote the production of callus.

As general conclusion, the maleic hidrazide must not be considered as a typical growth-regulating substance.

LETTERATURA CITATA

CIFERRI R. e BERTOSSI F. (1950) - Atti Istit. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia, Serie V, **8**, 125.

CIFERRI R. e BERTOSSI F. (1949) - Experientia, **5**, 289.

CIFERRI R. e CIFERRI F. (1947) - Atti Istit. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia, Serie V, **3**, 322.

CURRIER H. B. e GRAFTS A. S. (1950) - Science, **111**, 152.

CURTIUS T. H. e FOESTERLING H. A. (1895) - J. pr. Chem., **51**, 371.

GAUTHERET R. J. (1942-43) - Rev. Cyt. Cytophys. Vég., **6**, 85.

GOHRAM P. R. (1941) - Am. Journ. Bot., **28**, 98.

KNOTT J. E. (1950) - Agric. Chem. (citato da ZUKEL 1950, ma con indicazione errata).

MILLER R. R. e ERSKINE D. (1949) - Proc. 25th Nat. Shade Tree Conf., 88.

MOREL G. (1948) - Ann. des Epiphyt., **14** (N. S.), Mém. 5, 1 (estr.).

NAYLOR A. W. (1950) - Proc. Nat. Acad. Sci., (in stampa, citato da ZUKEL 1950).

SCHOENE D. L. e HOFFMAN O. L. (1949) - Science, **109**, 588.

WHITE D. G. e KENNARD W. C. (1950) - Proc. Am. Soc. Hort. Sc. (in stampa, citato da ZUKEL 1950).

ZUKEL J. W. (1950) - Agric. Chem., **5**, 35.

Durante la correzione delle bozze ci è pervenuto un lavoro di GREULACH V. A. e ATCHINSON E. (Bull. Torrey Bot. Club, **77**, 4, 1950) sulla inibizione dell'accrescimento e della divisione cellulare in radici di *Allium cepa* con idrazide maleica. I risultati di questi AA. confermano che la idrazide maleica si comporta, su *Allium cepa,* semplicemente come una sostanza tossica capace di inibire l'allungamento delle radichette dei bulbi e di impedire la divisione cellulare. Gli AA. emettono l'ipotesi che il composto possa anche inibire la distensione cellulare. Noi non possiamo ancora confermare ciò: possiamo solamente affermare che, utilizzando concentrazioni sino a 10^{-3} non abbiamo ottenuto, su tessuto di radice di carota coltivato in vitro, quelle cellule giganti che solitamente si ottengono con sostanze agenti sulla distensione cellulare (GAUTHERET, 1942-43).

Metodi biologici di saggio degli erbicidi selettivi

R. CIFERRI e F. BERTOSSI

La necessità di testi rapidi di laboratorio, a valore puramente orientativo e precedenti più approfonditi e precisi saggi in campagna, è una necessità riconosciuta per lo studio degli antiparassitari, e non mancano metodi sia per gli insetticidi che per gli anticrittogamici, ancorchè non ci si sia trovati spesso d'accordo su quelli da adottare e sulle condizioni di esecuzione dei testi. Al contrario molto meno si è fatto, in questo campo, per i diserbanti selettivi chimici (erbicidi selettivi chimici) forse anche perchè questi sono di più recente adozione nella tecnica agraria e perchè la gamma di composti atti a tale uso è ancora relativamente scarsa; l'apporto della chimica alla soluzione del problema dei diserbanti selettivi è molto inferiore rispetto all'apporto al problema degli antiparassitari.

Poichè da vari anni, nei nostri laboratori, andiamo saggiando una serie di diserbanti, del commercio o preparati a scopo sperimentale, ci siamo preoccupati di provare i metodi per il dosaggio dell'efficacia erbicida, tentando anche di escogitarne dei nuovi.

La rapida rassegna che segue non pretende di essere completa, ma vuole dare solamente un cenno dei testi più diffusi o più noti. Si sono a bella posta esclusi dalla rassegna i notissimi metodi di dosaggio delle auxine, studiati per scopi diversi da quelli inerenti al nostro tema.

A) *Saggi utilizzanti la somministrazione di una quantità dosata della sostanza in esame.*

Essi sono principalmente basati sul metodo di somministrare una quantità calibrata di soluzione acquosa o oleosa per assorbimento fogliare oppure per assorbimento per via diretta a mezzo di un tubo capillare; così ad esempio:

1) Dosaggio a mezzo di una goccia di soluzione acquosa (teste goccia d'acqua) (MITCHELL e coll., 1944).

Il saggio viene condotto normalmente a mezzo di piante di fagiolo scelte da un lotto omogeneo e fatte crescere in vasi di circa 9 cm. di diametro contenenti 400 gr. di buona terra da giardino. Ad una età variabile da 6 a 10 giorni a secondo della temperatura, i germinelli sono alti 9-10 cm. ed hanno emesso le due foglie primarie della lunghezza di 3,5-4 cm. E' bene che nei vasi vengano seminate numerose piante che sono poi diradate sino a lasciarne una per vaso in modo da poter comporre dei lotti il più possibile uniformi come sviluppo. Per ogni lotto vengono trattate 9 piante, lavorando su parecchi lotti per ogni composto esaminato.

La tecnica del saggio è la seguente:

Per mezzo di una micropipetta della capacità di 0,1 cc. graduata in centesimi viene deposta una goccia della soluzione (del volume di 0,01 cc.) sulla superficie superiore di una sola foglia per pianta lungo la nervatura mediana e a circa 3 mm. dal punto di attacco tra il picciolo e il lembo. La soluzione deve contenere 200 p.p.m. del composto in esame ed eventualmente lo 0,5 % in peso di Carbowax 1500 (od altro bagnante). I testimoni sono trattati allo stesso modo con acqua, eventualmente addizionata del bagnante.

Dieci giorni dopo il trattamento si pesa la parte area superiore al secondo nodo, e l'inibizione di crescita viene misurata dalla differenza tra il peso verde relativo ai controlli e il peso verde relativo alle piante trattate, esprimendo poi l'attività inibitrice in percentuale dell'inibizione di crescita dovuta a una soluzione alla concentrazione di 200 p.p.m. di un composto ad attività nota (ad es. 2,4-D).

Allo scopo di ovviare all'inconveniente dello scivolamento, e quindi della caduta della goccia, una modificazione del metodo è stata proposta recentissimamente da LINDER e coll. (1950). Questi AA. propongono che sulla foglia da trattare venga stampato un anello circolare di lanolina, sulla nervatura mediana e ad un cm. di distanza dall'inserzione del picciolo; l'area interna scoperta deve essere di circa 0,5 cmq. Per mezzo di una micropipetta si può deporre nell'interno dell'anello la goccia della soluzione da saggiare in quantità di 0,01 cc.

Questa modificazione è particolarmente conveniente quando si è costretti ad usare delle soluzioni alcooliche. Naturalmente il controllo deve essere trattato con la lanolina e il solvente usato.

2) Dosaggio a mezzo di una goccia di soluzione oleosa (teste goccia oleosa) (SWANSON, 1946).

Ripete essenzialmente il teste precedente con le seguenti differenze:

1) uso di un tipo di olio standard di per sè praticamente inattivo; 2) uso di due piante per vaso leggermente più sviluppate, con il secondo internodio lungo 2,5 cm; 3) goccie dello stesso volume ma contenenti una maggiore quantità di sostanza attiva (5γ per ogni goccia).

Come cosolvente può essere usato il fosfato di tributile ed è necessario l'uso di una pipetta automatica del tipo siringa.

E' questo un metodo particolarmente adatto per erbicidi usati in soluzione oleosa. Misura dell'inibizione di crescita ed espressione dell'attività inibitrice come il saggio precedente.

3) Dosaggio a mezzo di un disco di carta da filtro imbevuto della soluzione in esame (teste disco di carta bibula) (Bertossi, inedito).

Semi di fagiolo, provenienti da un lotto geneticamente omogeneo, vengono fatti germinare, dopo rapida sterilizzazione in ipoclorito, in vasi contenenti sabbia silicea lavata o imbevuta di soluzione nutritizia minerale, in camera termostatica a 23° C di temperatura e a 90% di umidità relativa. Vengono posti a germinare 5 semi per vaso e l'umidità della sabbia viene mantenuta per mezzo di acqua distillata: illuminazione con lampade fluorescenti per dodici ore giornaliere. Quando le piante hanno raggiunto gli 8-10 cm. di altezza vengono diradate sino a una pianta per vaso in modo da ottenere dei lotti rigorosamente omogenei.

Si preparano dei dischi di carta bibula, accuratamente lavata, del diametro di un cm., che vengono imbevuti della soluzione della sostanza da saggiare addizionata di Carbowax 1500 o di butossidifenilsulfonato sodico al 2 % od altro bagnante. I dischi sono deposti nella parte centrale della pagina superiore di una foglia per pianta e precisamente sulla più sviluppata delle due; per i testimoni si usano dischi imbevuti del solvente. addizionato o meno della sostanza tensioattiva.

Le piante vengono quindi sottoposte ad illuminazione continua e dopo sei giorni si raccolgono i risultati. Gli effetti di un diserbante sul peso verde, sull'allungamento e sui movimenti epinastici sono, entro certi limiti, proporzionali alla concentrazione delle soluzioni esaminate.

Il saggio è tuttora in via di sperimentazione.

4) Dosaggio a mezzo di iniezione diretta nei tessuti (teste iniezione) (Hitchcock, 1935).

La soluzione acquosa della sostanza in esame viene posta in tubetti di vetro della capacità di 0,4 cc., con una estremità tirata a capillare che viene infilata nel tessuto (picciolo o parti erbacee) della pianta scelta come

teste. Il tubetto con la soluzione si sostiene da se stesso ed il liquido è assorbito in qualche ora.

Secondo nostre esperienze, il metodo non ha dato però dei buoni risultati, sia per la difficoltà dell'introduzione del capillare, sia perchè fortissima è la variazione della rapidità di assorbimento, dipendendo questa dalla profondità a cui è stato immesso il capillare e dal fatto che frammenti di tessuto possono ostruire parzialmente il capillare stesso, ed inoltre da altri fattori mal precisabili.

Noi abbiamo modificato il teste basandoci sul metodo di Roach (1937) (vedi anche Scaramuzzi, 1949) per lo studio delle carenze di elementi micronutritivi, facendo cioè assorbire la soluzione da saggiare da foglie o giovani germogli per mezzo di un filo di cotone abbastanza grosso, imbevuto della soluzione e infilato per un capo (indurito con del collodio) nell'organo e pescante con l'altro in una fialetta colma della soluzione in studio.

Più semplicemente ancora abbiamo tentato di usare un metodo similare pure studiato per altri scopi da Roach (1937), facendo cioè assorbire la soluzione attiva dalla nervatura principale di una foglia, privata del lembo e pescante in un tubetto di vetro ripieno della sostanza in esame.

Queste nostre modificazioni sono ancora in via di sperimentazione.

B) *Saggio per nebulizzazione della parte area di piante.*

Riuniamo in questo paragrafo le principali notizie riguardanti i saggi eseguiti spruzzando con varie modalità la parte area di piante adatte.

Vengono usate piante di fagiolo, pisello, pomodoro, ravizzone, zucca, tabacco, ecc. allevate sia in vaso che in soluzione nutritiva e sia singolarmente che in gruppi.

Le soluzioni sono normalmente acquose, utilizzando quando è necessario un diminutore della tensione superficiale — ad es. Carbowax 1500 allo 0,5 % (Mitchell e coll. 1944) — tenendo però presente che questi possono aumentare l'efficacia di certi prodotti (Ennis e coll. 1946). Per la nebulizzazione vengono usati degli spruzzatori a forte pressione e ad ugello calibrato in modo da ottenere una costante dimensione delle gocce: è stato infatti provato che una nebulizzazione con gocce relativamente grandi (560-250 µ di diametro) è assai meno attiva di una con gocce molto più piccole (30 µ di diametro) (Smith, 1946).

La quantità di liquido nebulizzata viene spessissimo (specialmente dagli AA. americani) espressa in rapporto alla superficie dei vasi di col-

tura, ma con una esattezza relativa alla quantità di liquido effettivamente spruzzata sulle piante, molto bassa; questo inconveniente non viene eliminato completamente neppure con l'adozione del metodo di atomizzare la sostanza in un ambiente chiuso contenente le piante da trattare.

L'accrescimento in altezza delle piante, le variazioni del peso verde di tutta la parte area, o di certi internodi, l'intensità di movimenti epinastici, ecc. possono essere presi come misura dell'efficacia erbicida.

C) *Saggio per immersione istantanea delle parti aeree nella soluzione da saggiare* (CIFERRI e BERTOSSI, 1949).

Noi abbiamo iniziato la standardizzazione delle condizioni di esecuzione di un saggio di questo tipo le cui manualità sono:

Piante di pomodoro (o di altra pianta a secondo delle esigenze, o piante di parecchie specie diverse) di eguale taglia e vigoria, giovani, ma con foglie definitive, vengono levate dalle terrine in cui erano state allevate e le radici sono accuratamente ripulite in debole corrente di acqua.

La parte aerea di questa pianta viene completamente e rapidamente immersa in capaci bicchieri contenenti la soluzione da saggiare (addizionata di un diminutore di tensione superficiale). Immediatamente di poi la pianta viene ritirata (l'eccedenza di liquido è sgocciolata con un brusco colpo della mano) e posta in tubi d'assaggio di grandezza appropriata, contenenti una soluzione nutritizia minerale. Le condizioni ambientali di soggiorno delle piante dopo il trattamento sono quelle indicate nel teste disco di carta bibula (vedi sopra).

Giornalmente viene riportata a livello la soluzione nutritizia per mezzo di acqua distillata e vengono notati i sintomi che appaiono, quali movimenti epinastici, turgore delle foglie, loro colore; ecc.

E' allo studio un indice numerico per esprimere l'efficacia erbicida. Un modello provvisorio di scheda è stato da noi compilato per le letture giornaliere.

D) *Saggio per prodotti gassosi* (DENNY, 1938).

Vengono usati giovani germogli di patata, dell'altezza di circa 8 cm., con un paio di foglie completamente aperte, tagliati alla base e messi in provette con circa 5 cc. di acqua mantenendoli fermi per mezzo di cotone idrofilo.

Due per volta questi germogli vengono posti in un essicatore a vuoto di 700 cc. di capacità, con un rubinetto a tre vie. Viene fatto il vuoto indi

immesso ossigeno per il 20 % del volume dell'aria estratta. L'essicatore viene poi collegato con il recipiente contenente il prodotto gassoso che passa nell'essicatore e viene sostituito da acqua proveniente da un recipiente a livello costante in modo da ristabilire la pressione atmosferica.

E) *Saggi sull'assorbimento per via radicale.*

Sono generalmente saggi molto precisi ma non è facile poter collegare i risultati ottenuti con l'effettiva efficacia erbicida. Possono però dare utilissime indicazioni specialmente in vista di una somministrazione dell'erbicida direttamente al terreno in mescolanza con fertilizzanti.

1) Dosaggio per mezzo dell'allungamento della radice primaria di cariossidi di mais (SWANSON, 1946).

Con questo metodo SWANSON ha potuto eseguire dei dosaggi assai precisi di soluzioni di 2,4-D a concentrazioni variabili fra 0,01 mmg. per litro e 10 mmg. per litro. La tecnica è la seguente:

Semi di mais della varietà Silver King (Wisconsin N. 7) vengono sterilizzati in una soluzione satura di ipoclorito per 3 minuti e poi posti a germinare in scatole di Petri di 15 cm. di diametro su carta da filtro inumidita con acqua distillata. Le scatole vengono tenute all'oscurità per 48 ore in camera termostatica a 26° C.

Scelti i semi germinati le cui radici primarie hanno raggiunto una lunghezza variabile tra 15 e 25 mm., essi sono disposti in nuove scatole Petri con carta da filtro inumidita con 15 cc. della soluzione da saggiare.

Dopo 48 ore di permanenza in camera termostatica, sempre alle stesse condizioni di luce e temperatura, viene nuovamente misurata la lunghezza della radice primaria. La differenza fra le due misure (prima e dopo il trattamento) dà l'allungamento verificatosi, che può essere espresso in percentuale dell'allungamento ottenuto per i testimoni in acqua distillata.

THOMPSON e coll. (1946) pongono i semi a germinare direttamente nelle soluzioni da saggiare ed eseguiscono un'unica misurazione dopo 4 giorni. La inibizione di crescita viene determinata sottraendo la lunghezza media della radice primaria dei semi trattati dalla lunghezza media relativa ai semi di controllo. Può essere calcolato un indice dando il valore 100 all'inibizione dovuta a una soluzione tipo (ad es. 2,4-D a 10 p.p.m.) ed esprimendo l'attività della soluzione in base a questo valore.

2) Saggio del lupino bianco (teste di MACHT) (BERTOSSI e CIFERRI, 1949).

Nel nostro laboratorio le condizioni di esecuzione standardizzate sono le seguenti:

si scelgono dei semi di lupino bianco di recente raccolto (alta germinabilità), di dimensioni e pesi individuali quanto più possibile uniformi: le migliori condizioni di lavoro si realizzano lavorando su lotti di semi provenienti da piante geneticamente omogenee. I semi vengono tenuti a rigonfiare in acqua di fonte per circa 15 ore alla temperatura approssimativa di 23° C.

Detti semi, in numero almeno triplo del necessario, si pongono a germinare in sabbia silicea previamente lavata, e mantenuta costantemente molto umida, avendo l'avvertenza di seminarli « di taglio », con l'ilo basso. Le terrine con i semi sono poste in termostato al buio a 23° C.

Al terzo giorno si scelgono i germinelli il cui ipocotile ha raggiunto la lunghezza di 35 a 40 mm. Tali germinelli si pongono individualmente sull'orlo di altrettante provette, di calibro tale che il seme non vi penetri, oppure si posano in corrispondenza di fori praticati in lastrine di alluminio esternamente paraffinato, che possono sovrapporsi e poggiare ai bordi di apposite vaschette di vetro. (Nelle nostre prove, impieghiamo delle vaschette di vetro a parallelepipedo, alte cm. 17,5, e della sezione di 10,2 × 4,5 cm. Ogni lastrina di alluminio ha 10 fori e quindi ogni vaschetta è adattata a 10 germinelli). Le provette o le vaschette vengono riempite con la soluzione nutritizia di SHIVE così formata: 5,2 cmc. di soluzione 0,5/M di nitrato di calcio; 15 cmc. di una soluzione 0,5/M di solfato di magnesio; 18 cmc. di una soluzione 0,5/M di fosfato monopotassico (biacido), portando il volume a un litro con acqua distillata.

Un certo numero di germinelli viene posto nella soluzione nutritizia senza ulteriori aggiunte, funzionando da testimone, e una parte nella soluzione nutritizia contenente discoidi, nella percentuale desiderata, i composti di cui si desidera saggiare l'attività fitodinamica. E' necessario usare non meno di 20 germinelli per controllo, e 20 per ogni sostanza e per ognuna delle diluizioni da saggiare: meglio ancora ripetere le prove più volte e lavorare sulle medie.

Ogni giorno allo scadere delle 24 ore, e cominciando dall'inizio delle esperienze, si misurano con la precisione di ± 1 mm. gli ipocotili estraendo momentaneamente i germinelli dai recipienti che li contengono. Tali misurazioni si effettuano durante 4-5 giorni consecutivi e i germinelli vengono mantenuti costantemente in camera termostatica a 23° C. e all'oscurità.

Per ogni sostanza o diluizione saggiata e per il testimonio si determina la lunghezza media raggiunta di 24 in 24 ore. Il rapporto tra le lunghezze successive (fatto = a 100 la lunghezza iniziale) ci dà il valore dell'indice di allungamento, e il rapporto percentuale tra l'indice di allungamento dei germinelli trattati e quello dei testimoni costituisce l'indice fitotossico.

I risultati debbono essere elaborati secondo uno dei metodi statistici oggi in uso.

3) Teste *Lemna* (CLARK, 1925, ecc.).

Piante di *Lemna minor* (ma anche di *Spirodela polyrrhiza*, ecc.), vengono poste in grandi cristallizzatori di vetro contenenti le soluzioni della sostanza da saggiare in liquido nutritivo minerale, stabilendo naturalmente dei testimoni in sola soluzione nutritizia.

I cristallizzatori sono mantenuti in condizioni ambientali opportune, compensando l'evaporazione con l'aggiunta di acqua distillata. Si computa ogni giorno, e per molti giorni consecutivi, il numero degli individui presenti, o delle fronde, o l'area occupata dalle plantule. Si possono esprimere i dati con degli indici numerici in rapporto al testimonio o alle plantule trattate con una soluzione base ad attività nota.

Semplice è il rilievo del numero di plantule; per il rilievo dell'area occupata può essere utilizzata una camera chiara (ASHBY e coll., 1928) o meglio ancora un fotometro che misuri la quantità di luce passante per il cristallizzatore contenente le piante di *Lemna*, illuminato dal basso, e che naturalmente è proporzionale al numero di plantule presenti e all'area occupata (ASHBY e coll., 1928).

Un metodo elegante e molto pratico di rilievo fotografico è stato proposto da GORHAM (1941).

CONCLUSIONI

Da questa succinta rassegna si può dedurre che nessuno dei metodi sino ad oggi proposti risponde perfettamente allo scopo e la prova migliore di questa nostra affermazione è che se ne propongono sempre dei nuovi o almeno delle modificazioni dei preesistenti.

Evidentemente sono troppo lontani dall'applicazione pratica i mezzi per diretta immissione nelle piante delle sostanze erbicide, nonchè quelli per assorbimento radicale. Rimangono adunque i metodi che si accostano alle modalità di uso pratico dei diserbanti, quali quelli per applicazione

sulle foglie o sui piccioli di una quantità dosata della soluzione, o i metodi analoghi. Il saggio della goccia calibrata rientra purtuttavia nei micrometodi in cui l'efficacia dei composti può valutarsi solo se molto alta ed inoltre urta contro le difficoltà dell'interpretazione, agli effetti della valutazione dell'efficacia dell'erbicida, di reazioni localizzate. Il teste *Lemna* sembrerebbe tra i più sensibili, ma i parametri misurabili sono in pratica troppo pochi: la velocità di moltiplicazione delle fronde, la loro area e poche caratteristiche morfologiche. Crediamo perciò che il metodo da noi impiegato per immersione rapida di tutta la parte aerea delle piante testi nell'erbicida (eventualmente con l'aggiunta di un bagnante) e l'osservazione delle reazioni progressive durante il loro sviluppo in soluzioni nutritizie, sotto condizioni di ambiente standardizzate, sia ancora il metodo che, per quanto tutt'ora grezzo, permette di accostarsi di più alle condizioni d'impiego pratico dell'erbicida.

Secondo la nostra opinione la imperfezione dei saggi per l'efficacia di un diserbante selettivo è dovuta alla sconcertante molteplicità di sintomi e di reazioni. Infatti non soltanto le singole specie vegetali usate come testi rispondono in maniera diversa ai differenti selettivi chimici, ma anche standardizzando le specie e le razze delle piante teste, l'età delle plantule in mezzo ambiente (luce, temperatura e umidità) i sintomi oscillano sensibilmente e varia è la sequenza delle alterazioni indotte nelle piante.

Probabilmente sull'azione (e quindi sull'efficacia) dell'erbicida, agiscono altri fattori a noi ignoti: ad es. la penetrazione attraverso la cuticola per velocità e quantità, la traslocazione del composto chimico sino ai meristemi, ecc.

Come abbiamo detto crediamo che il metodo da noi impiegato per immersione rapida di tutta la pianta, relativamente alla parte aerea, sia il migliore ma è però necessario perfezionarlo e standardizzarlo in relazione:

1) al numero delle specie (razze) di piante-teste da impiegare nei saggi, e il numero degli individui da usare;

2) all'età delle plantule da trattare ed alle condizioni di sviluppo delle stesse;

3) alle diluizioni progressive da usare nei testi per uno stesso prodotto ed una stessa specie e razza di pianta;

4) alle condizioni di sviluppo, sia per il terreno di coltura che per le condizioni di luce (fotoperiodo e intensità, tipo di lampade), di temperatura e di umidità, prima e dopo il trattamento;

5) al valore da assegnare ai sintomi che presentano le piante e le reazioni che ne seguono.

Tutto ciò può essere efficacemente effettuato solo se più Istituti sperimentali vorranno affrontare collettivamente il problema.

Istituto Botanico e Laboratorio Critogamico, Università di Pavia

SUMMARY

The fundamental methods for laboratory test of chemical selective herbicides are reviewed. The simple method proposed by the writers (by rapid immersion of the aerial part of standard plant in the chemical solution, followed by the culture, under standardized environmental conditions, in liquid nutritive media) is, apparently, better reproducing the effect of the herbicides obtained in the field.

LETTERATURA CITATA

ASHBY E., BOLAS B. D. e HENDERSON F. Y. (1928) — Ann. Bot., **42**, 771.
— — — (1935) — Ann. Bot., **49**, 309.
CIFERRI R. e BERTOSSI F. (1949) — Experientia, **5**, 289.
— — (1949) — Experientia, **5**, 358.
CLARK N. A. (1925) — Journ. Phys. Chem., **16**, 935.
DENNY F. E. (1938) — Contr. Boyce Thompson Inst., **9**, 431.
ENNIS W. B. e BOYD F. T. (1946) — Bot. Gaz., **107**, 552.
GORHAM P. R. (1941) — Am. J. Bot., **28**, 98.
HITCHCOCK A. E. (1935) — Contr. Boyce Thompson Inst., **7**, 82.
— (1935) — Contr. Boyce Thompson Inst., **7**, 87.
LINDER P. J., MITCHELL J. W. e WOOD J. W. (1950) — Science, **111**, 518.
MITCHELL J. W. e HAMNER C. L. (1944) — Bot. Gaz., **105**, 474.
ROACH W. A. (1937) — Ann. Rep. East Malling Res. Sta., 142 e 150.
SCARAMUZZI G. (1949) — « Il Tabacco », n. 589, 1.
SMITH H. H. (1946) — Bot. Gaz., **107**, 544.
SWANSON C. P. (1946) — Bot. Gaz., **107**, 560.
THOMPSON H. E., SWANSON C. P., NORMAN A. G. (1946) — Bot. Gaz., **107**, 476.

Azione dell' O-isopropil-N-fenilcarbamato e del γ-esaclorocicloesano sui tessuti di radice di carota coltivati «in vitro»

A. CAPOZZI

L'O-isopropil-N-fenilcarbamato è noto come sostanza ad azione fitoinibitoria selettiva, tale infatti appare specialmente attraverso gli studi di ALLARD e coll. (1946), di TEMPLEMAN e coll. (1946), di ENNIS (1948) (che pubblicò una lista di 57 piante fra Mono- e Dicotiledoni variamente rispondenti all' O-isopropil-N-fenilcarbamato), ecc.

Nel nostro Istituto ci siamo già occupati di questo composto, sia per i suoi rapporti sinergici con altri erbicidi (CIFERRI e BERTOSSI, 1949) che per i suoi effetti su *Cynodon Dactylon*, Graminacea largamente infestante (CIFERRI e BERTOSSI, 1950).

Data una certa scarsità di dati su questa sostanza, abbiamo ritenuto interessante riferire, in via preliminare, sulla sua azione sui tessuti della radice di *Daucus carota* (varietà orticola), coltivati *in vitro,* e, poichè dai lavori di DOXEY (1949) e di ENNIS (1949) si può rilevare come l' O-isopropil-N- fenilcarbamato abbia sulla cellula una azione sotto certi aspetti simile a quella della colchicina, ne abbiamo associato lo studio a quello dell'azione, pure sui tessuti di radice di carota, del γ -1, 2, 3, 4, 5, 6-esaclorocicloesano, sostanza considerata come veleno cellulare C-mitotico tipico (D'AMATO, 1949 *et alt.*). Pure questa sostanza, per quanto ormai notissima nella sua azione sui vegetali (BERTOSSI e CIFERRI, 1950) non ci risulta essere mai stata studiata sui tessuti coltivati, SCHOPFER e BEIN (1948) solo essendosi occupati dell'azione dei vari isomeri del esaclorocicloesano sulla radice di *Pisum sativum* allevata *in vitro.*

Radici di una razza orticola di *Daucus carota* vennero accuratamente sterilizzate in una soluzione concentrata d'ipoclorito di calcio e tagliate, in condizione di completa asepsi, in prismi di circa 0,7 $\times$ 0,7 $\times$ 2 cm., in

modo tale che la dimensione maggiore del frammento fosse parallela all'asse della radice e che ogni prisma comprendesse libro, legno e la porzione di zona generatrice relativa.

Il terreno di semina, preparato con soluzione minerale di KNOP, diluita a metà, senza cloruro ferrico ed in acqua bidistillata, contenente glucosio al 5 %, vitamina B_1 a 10^{-6}, cloridrato di cisteina alla 10^{-5}, venne solidificato con agar al 1,2 %, prima lungamente lavato in acqua. Come elementi oligodinamici vennero aggiunte 10 goccie per litro di terreno della soluzione di BERTHELOT. Il γ-esaclorocicloesano fu aggiunto in modo da averne una soluzione satura a caldo (105° C per 30 minuti circa), mentre l' O-isopropil-N-fenilcarbamato venne aggiunto alle concentrazioni di 100 p.p.m. (prossima quindi al massimo di solubilità) e di 10 p.p.m.

Il terreno venne diviso in provettoni da batteriologia, nella quantità di 25 cc per ogni tubo, in modo da poter disporre di 24 provette come testimonio e di 24 provette per ogni composto e per ogni diluizione usata. Le esperienze vennero eseguite in doppio, in due diversi periodi.

I prismi vennero seminati in modo che la loro estremità radicale rimanesse al di fuori del terreno di coltura, in cui furono immersi per 1 cm. circa. Allo scopo di verificare una eventuale influenza diretta del terreno sulla formazione del callo, un certo numero di espianti vennero invece seminati in posizione normale (riferita alla pianta) e ciò per la nota polarizzazione nella produzione del callo (GAUTHERET, 1942-43). Le culture vennero tenute a temperatura ambiente di circa 26° C ed a luce diffusa.

Lo sviluppo del callo avvenne per tutti i tubi regolarmente. Dopo 6-7 giorni di coltura, nei controlli e negli espianti trattati con O-isopropil-N-fenilcarbamato a 10 p.p.m. si formò un ingrossamento in corrispondenza della regione cambiale, accompagnato da piccoli bitorzoli, d'aspetto quasi granuloso, dapprima biancastri poi fortemente clorofilliani, sparsi su tutta la superficie del prisma non immersa nel terreno di coltura, ma soprattutto nella regione parenchimatica-vascolare.

Queste stesse manifestazioni apparvero, con un ritardo di qualche giorno, anche sugli espianti coltivati sul terreno contenente il γ-esaclorocicloesano; il ritardo fu invece molto notevole per quelli trattati con O-isopropil-N-fenilcarbamato a 100 p.p.m.

La formazione del callo proseguì poi regolarmente, senza che si notassero differenze (fatta eccezione per il ritardo suaccennato riguardante l'inizio dell'attività proliferativa nelle colture con γ-esaclorocicloesano e

con O-isopropil-N-fenilcarbamato a 100 p.p.m.) tra i controlli e gli espianti comunque trattati.

Dopo 72 giorni di coltura, durante i quali si evitò il disseccamento del terreno incappucciando i tubi con carta oleata, le colture si presentavano come segue:

I controlli e le serie degli espianti trattati con O-isopropil-N-fenilcarbamato a 10 p.p.m., e con γ-esaclorocicloesano, avevano dato origine alla loro estremità radicale, quella cioè non a contatto col terreno di coltura, ad un callo voluminoso e mammellonare, nella maggior parte dei frammenti ricoprente tutta la superficie dell'estremità stessa, in qualche caso limitata alla zona generatrice libro-legnosa. Sulle pareti laterali degli espianti l'attività proliferativa, piuttosto scarsa e irregolare, aveva prodotto piccole pustole giallo-verdastre arrestantesi al limite con la parte immersa.

Gli espianti seminati in posizione normale, cioè con l'estremità radicale immersa nel terreno, presentavano solo in questa qualche abbozzo di callo, mentre sulla superficie non a contatto con il mezzo di coltura, le neoformazioni erano rappresentate da quelle granulazioni postulose bianco-verdastre, che appaiono nelle zone di scarsa attività proliferativa.

Nessuna differenza morfologica potè quindi essere notata tra i controlli e i frammenti trattati con γ-esaclorocicloesano, e con O-isopropil-N-fenilcarbamato a 10 p.p.m.

Le colture su terreno contenente l' O-isopropil-N-fenilcarbamato a 100 p.p.m. presentavano, alla loro estremità radicale un callo sempre di dimensioni inferiori a quelle raggiunte sia dai controlli, che dalle due serie di tubi rispettivamente trattate con O-isopropil-N-fenilcarbamato a 10 p.p.m. e con γ-esaclorocicloesano, pur presentandone tutte le caratteristiche.

Anche l'osservazione microscopica non rivelò differenze anatomiche visibili tra i testimoni e gli espianti comunque trattati. Il tessuto neoformato presentava tutte le caratteristiche istologiche già note per la descrizione di altri AA., comprese quelle formazioni talloidi visibili spesso alla periferia del tessuto di proliferazione.

In base ai dati ottenuti si può concludere quanto segue:

1) L' O-isopropil-N-fenilcarbamato alla concentrazione di 10 p.p.m. non ha alcuna azione sullo sviluppo *in vitro* di frammenti di radici di carota. A 100 p.p.m. il composto esercita, invece, una netta azione inibitrice evidente, oltre che per il minor volume dei calli di proliferazione osservati sugli espianti nei riguardi dei controlli, anche per l'effetto ritardante l'inizio dell'attività proliferativa.

2) Il γ-esaclorocicloesano esercita solo una leggerissima inibizione all'iniziarsi dell'attività callogena, inibizione che cessa ben presto, tanto che alla fine dell'esperienza il volume dei calli di proliferazione non differisce in modo visibile da quello dei testimoni.

Le esperienze proseguono.

Pavia, Istituto Botanico della Università, Dicembre 1950.

SUMMARY

The inhibition power of pure γ-isomer of the exachlorocyclohexane and of O-isopropyl-N-phenylcarbamate has been tested on tissue culture of carrot.

The O-isoprophyl-N-phenylcarbamate is without effect at 10 p.p.m., but clearly inhibitory at 100 p.p.m.

The γ-isomer (saturated water solution) was slightly inhibitory only at the first period of growing.

LETTERATURA CITATA

Allard R. W., De Rose H. R., Swanson C. P. (1946) - Bot. Gaz., **107**, 575.
Bertossi F. e Ciferri R. (1950) - Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia, ser. V, **8**, 129.
Ciferri R. e Bertossi F. (1949) - Experientia, **5**, 358.
—— —— (1950) - Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. Pavia, ser. V, **8**, 125.
D'Amato F. (1949) - Caryologia, **1**, 109.
Doxey D. (1949) - Ann. Bot., **13**, 329.
Ennis W. B. (1948) - Bot. Gaz., **109**, 473.
—— (1949) - Amer. J. Bot., **35**, 15.
Gautheret R. J. (1942-43) - Rev. Cyt. Cytophys. Vég., **6**, 85.
Scopfer W. H. e Beim M. L. (1948) - Experientia, **4**, 147.
Templeman W. G. e Sexton W. A. (1946) - Proc. Roy. Soc., **133 B**, 300.

Qualche dato recente circa le malattie da carenza nutrizionale degli alberi fruttiferi

R. CIFERRI

E' nozione comune che le carenze o deficienze nutrizionali delle piante si riferiscono ad una loro alimentazione minerale insufficiente o inadeguata, sia nei riguardi della fisiologia dello sviluppo e della riproduzione, sia, in relazione al valore del prodotto, per una minore resa unitaria che per una menomata qualità del prodotto rispetto alla norma.

Parlando di carenze nutrizionali, generalmente si faceva riferimento agli elementi cosidetti « micronutritivi » (od « oligodinamici » o « biocatalizzatori » o « protettivi », ecc.), di cui le piante abbisognano in minime quantità: generalmente da meno di una a poche parti per milione. Oggi la distinzione ci appare meno netta, non solo quantitativamente (dato che vi sono elementi, quali il ferro [Fe], il magnesio [Mg], lo zolfo [S], il cloro [Cl] che mal si saprebbe classificare tra gli elementi micronutritivi o gli altri), ma anche per il fatto, come si vedrà meglio oltre, che il metabolismo dei diversi elementi, anioni e cationi, è intimamente correlato.

Comunque, seguendo una suddivisione tradizionale, dei 50 o 60 elementi che possono essere presenti nelle ceneri delle piante, distingueremo quelli che potrebbero chiamarsi macronutritivi (azoto [N], fosforo [P], potassio [K] e calcio [Ca]); gli elementi mesonutritivi (i già citati Fe, Mg, S, Cl) e quelli micronutritivi, che più da vicino c'interessano ai nostri fini (boro [B], manganese [Mn], molibdeno [Mo], zinco [Zn] e rame [Cu]). Non faremo cenno, invece, degli elementi accessori (ad es., silicio e sodio), o di altri la cui funzione biogena è incerta (ad es., nichel e vanadio), o di altri ancora che più interessano la nutrizione dell'uomo e degli animali (ad. es., fluoro, iodio, cobalto, ecc.).

Il primo problema da porsi è quello di definire quali sono le caratteristiche per le quali un elemento può dirsi essenziale per la vita delle piante. ARNON così ne ha stabilito i criteri: 1) l'elemento deve essere necessario per completare il ciclo vegetativo e riproduttivo delle piante;

2) l'elemento non può essere sostituito da nessun altro; 3) l'elemento deve avere un'azione diretta sulla pianta. Tali criteri sono accettabili, salvo qualche riserva al punto 3, ma non sono sempre facili ad accertare sperimentalmente.

Ad es., il sodio [Na] non è necessario per le piante, neppure per quelle le quali, vivendo in suoli salati, ne accumulano forti quantità nelle ceneri, e che si dicono appunto piante alofile. Ciononostante è noto che, entro certi limiti e per un certo tempo almeno, il Na può sostituire il K; come e perchè non lo sappiamo di certo, dato che non sappiamo neppur bene a che cosa serva il K. Ciò a parte, il Na esercita una influenza favorevole sul raccolto di certe piante, quali la Barbabietola da zucchero: esperienze effettuate in Inghilterra hanno dimostrato che, entro ridotti e ben definiti limiti, ad una aggiunta di cloruro sodico al terreno si ha una maggiore resa per ettaro in saccarosio, eguale all'incirca al peso del sale somministrato. (Incidentalmente, certe alte rese della Barbabietola nel Ferrarese potrebbero essere connesse con questo fatto).

In questa rassegna sintetica, ci limiteremo ad esporre dei dati generali, senza entrare nei dettagli sia intorno alle funzioni dei singoli elementi micronitritivi, che alle malattie dovute alla loro carenza nelle diverse specie di piante coltivate ed alla loro sintomatologia, insistendo soprattutto sui dati generali circa i metodi diagnostici e quelli curativi, principalmente in riguardo agli alberi fruttiferi, nonchè sulle difficoltà che si presentano nello studio delle carenze.

Le carenze nutritive alla luce delle nozioni sulle soluzioni equilibrate.

Nello studio della fisiologia nutrizionale della pianta, è erroneo considerare ogni elemento nutritivo come a sè stante, quasi che tutti, invece, non entrassero in giuoco simultaneamente, ostacolandosi od ausiliandosi a vicenda nella loro assunzione da parte delle piante stesse. Poichè nelle soluzioni diluite cosidette circolanti del suolo, i sali si trovano dissociati in ioni di segno diverso, ogni sale interviene nel metabolismo delle piante sia con i cationi, generalmente dei metalli (Ca, Mg, Fe, K, Cu, Zn, Mn, ecc.) che cogli anioni (Cl, PO_3, BO_3, SO_4, ecc.); l'azoto può essere presente con l'uno o con l'altro segno ionico (NH_4 o NO_3).

OSTERHOUT mise in evidenza (e le conferme sono state numerose) che ciascuno degli elementi macronutrizionali delle piante, se somministrato isolatamente anche al disotto della concentrazione ottimale, è tossico per

le piante stesse; così il K, che si trova nel terreno in soluzione anche alla concentrazione di 500-600 p.p.m., è tossico alla dose di 200 p.p.m. se somministrato da solo (HOMES). Vi è una classica esperienza che consiste nel far pescare separatamente un fascetto di radici di una stessa pianta nelle varie soluzioni separate dei sali che compongono una comune soluzione nutritizia, per dimostrare che, prese separatamente, tali soluzioni sono tossiche per la pianta. Se invece almeno due sali sono presenti nella stessa soluzione, la tossicità di ognuno diminuisce sino ad essere praticamente nulla ad una certa concentrazione: è questa la soluzione equilibrata (per effetto dell'antagonismo degli ioni), per cui la penetrazione degli ioni stessi nella pianta è massima, ciò che significa che lo stato nutrizionale dell'individuo è il migliore. In pratica le soluzioni circolanti nel suolo, molto complesse e tutt'altro che ben note, sono appunto delle soluzioni equilibrate, già per il fatto che le piante vi vivono.

Si è poi visto che, a soluzione meglio bilanciata, si accompagna nelle piante un maggior accumulo di anioni; vi sono elementi che nelle piante penetrano solo sotto forma di anioni, come Cl, S, P e in parte N; sono proprio questi gli elementi alla base della parte più vitale e delicata del protoplasma cellulare: le proteine. I cationi hanno dunque una duplice funzione: una diretta (che è molto varia e generalmente poco nota; ad es., i metalli pesanti entrano negli enzimi o in generale hanno funzione catalitica) ed una indiretta, regolando l'assunzione degli anioni, che sono alla base delle molecole plastiche.

Si è dato cenno del fatto che la soluzione diluitissima del suolo è una soluzione equilibrata per eccellenza, in un equilibrio molto dinamico e vario, ma sempre bilanciato. Ma nei suoli agrari, l'intervento dell'uomo, con le concimazioni, arricchendo la soluzione circolante, tende a rompere questo equilibrio, e si può anche oltrepassarne la soglia, per cui, mentre si mette a disposizione delle piante una maggior copia di ioni, se i poteri di scambio del terreno non intervengono per riportare all'equilibrio, si può giungere ad una carenza di qualche elemento preesistente nella soluzione circolante.

Viste sotto questo aspetto, le carenze nutrizionali appaiono quali provocate da una squilibrio ionico, entrando in valore, assieme all'elemento carente, molti dei cationi ed anioni della soluzione, con reciproche interferenze, nel mobile gioco delle reazioni attive e passive tra suolo e piante.

La diffusione delle carenze dei fruttiferi in Italia e il loro fabbisogno nutrizionale.

Era — ed è forse ancora — opinione diffusa, anche nei tecnici agricoli, che le carenze nutrizionali degli alberi fruttiferi in Italia fossero assenti; come era da aspettarsi, i dati di questi ultimi anni hanno dimostrato che non è vero, pur essendo giusta l'asserzione che la loro frequenza è da noi molto minore rispetto al Nord Europa, ed a quanto si ha in terre di recente guadagnate alla frutticoltura, come nel Canadà e nel Nord America, nel Sudafrica, nell'Australia e Nuova Zelanda, ecc.

Si è appena all'inizio dell'esplorazione, e non siamo in condizioni di poter dare un quadro sufficientemente esatto della distribuzione topografica e qualitativa delle carenze in Italia. In rapporto al territorio sinora esplorato, pare che le carenze nutrizionali siano accentrate nelle regioni a coltura di alberi fruttiferi dell'arco alpino e prealpino, e forse degli Appennini; non se ne ha notizia, ad es., per la pianura Padana. I dati sono poi singolarmente scarsi per l'Italia meridionale ed insulare, che attendono di essere studiate sotto questo punto di vista.

A parte le abbastanza comuni e diffuse clorosi cosidette da Fe-carenza, quelle sinora meglio individuate sono le carenze di B sulle Pomacee; ma ciò può doversi forse solo alla conclamata sintomatologia degli alberi che ne soffrono. Vi sono però degli elementi per ammettere che si abbiano anche delle carenze di zinco e di manganese; non — per ora almeno — da rame e da molibdeno. Del resto, per il secondo elemento le nostre conoscenze sono appena rudimentali, e per il primo può forse giocarvi positivamente la diffusione dei trattamenti anticrittogamici cuprici.

Circa il fabbisogno nei vari elementi delle differenti specie di piante coltivate, mancano ancora dei quadri relativamente completi, non solo per un certo numero di difficoltà in fatto di analisi rapide e precise, ma anche per l'interferenza tra i vari elementi di cui si dirà più oltre. Comunque il problema è di più facile soluzione per le piante erbacee annuali; ma è difficile generalizzare anche in uno stesso gruppo di piante. Così, se è vero che il gruppo dei Cavoli richiede abbondante N, P, Ca, Mg, B e Mo, il Cavolfiore occorre di abbondante K; così le Barbabietole a radici tonde pare siano molto esigenti in Mn, e quelle a radici allungate meno; nelle Patate si hanno razze ad alta esigenza nutrizionale e ad esigenza molto minore.

Il problema del fabbisogno nei singoli elementi si complica per le piante arboree poliennali, per il sovrapporsi di diversi cicli fisiologici a varia richiesta nei singoli elementi; inoltre il problema è stato affron-

tato prevalentemente nel Nord Europa, ed i dati hanno poco valore per le nostre razze mediterranee. In Inghilterra, ad es., si hanno Meli ad alta richiesta di K ed altri ad alta richiesta di Mg e Mn.

Negli alberi da frutto il problema è ulteriormente complicato dal fatto che le razze o selezioni dei portainnesti possono avere fabbisogni differenti; così le selezioni E.M. dei « Dolcini » e dei « Paradisi », hanno razze soggette facilmente a K-carenza ed altre a Mg-carenza. E' evidente che particolarmente delicati sono i casi in cui su un portainnesto facile alla K-carenza (ad es., E.M.V) si innestano marze ad alta richiesta di K, come, in Inghilterra, « Cox Orange Pippin », « Grenadier », « Beauty of Bath », ecc.

Ma forse le maggiori complicazioni nello stabilire i fabbisogni nutrizionali degli alberi fruttiferi, sono le diverse esigenze nutrizionali nelle diverse fasi di vita. Ad es., se nelle piante che non hanno ancora iniziato la fruttificazione sono da temere soprattutto le carenze di K e di P, più tardi sono maggiormente frequenti quelle di K e di N (altrove anche di Mg); d'altro canto, N e P sono fondamentali per il rinnovo vegetativo.

Un'ulteriore complicazione si ha nel fatto che le dosi di sali attivanti la produttività, possono non essere quelle che impartono le migliori caratteristiche ai frutti. Un esempio generico, soprattutto per le Pomacee, si potrebbe avere nei seguenti rapporti tra deficienze nutrizionali e produttività o qualità dei frutti:

deficienza di N = frutti ottimi per sapore, aroma, colore e conservabilità, ma deficiente tonnellaggio;
deficienza di P = frutta molle, acida, a gusto ed aroma non gradevole, con rese mediocri per albero;
deficienza di K = frutta di lenta maturità o non maturante, spesso di sapore subacido-dolciastro, con tonnellaggio scarso;
deficienza di Mg = frutti maturanti lentamente, legnosetti e con poco aroma e gusto, talvolta anche con normale produttività;
deficienza di B = frutti deformati, duri, suberosi, piuttosto insipidi e ad aroma poco accentuato, ma con una produttività anche normale.

Un'approssimativa lista degli elementi nei quali alcune specie frutticole sono più esigenti potrebbe essere la seguente:

Melo: K, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, B;
Pero: N, Fe, meno B, forse Zn e Cu;
Susino: N, Fe;
Ciliegio: Mn;
Pesco: Zn.

I sintomi visuali delle carenze.

L'accertamento delle carenze può effettuarsi in via sperimentale o in pieno campo; ma in ogni caso è basato principalmente sui sintomi visuali delle malattie od alterazioni che provoca.

Sotto condizioni sperimentali, le carenze si provocano coltivando piante in mezzo liquido o in sabbia silicea rigorosamente priva dell'elemento di cui la pianta deve andare in carenza (e vi è tutta una tecnica raffinata per la purificazione dei sali e dell'acqua, nonchè per i recipienti da impiegare e per i controlli delle purezze); in tal modo si fissano i sintomi e la loro sequenza, descrivendoli in modo da poter redigere delle chiavi analitiche per il loro riconoscimento, oppure fotografandoli in colore.

In linea generale, tali sintomi consistono in modificazioni del colore delle foglie (clorotiche, o pallide, o bronzate, o maculate, o tutte di color verde-azzurrastro o verde-grigiastro), o in modificazioni dell'abito di crescita (ad es., formazione di rosette fogliari per accorciamento degli internodi), o per necrosi di certi organi (ad es., gli apici vegetativi), o per formazione di tessuti suberificati od altre anomalie istologiche, quali una eccessiva lignificazione, o nella riduzione di vari organi (prime le foglie), ecc.

Il lavoro di ricognizione delle carenze si è svolto abbastanza completamente forse per una dozzina di piante agrarie, e più o meno incompletamente per una o due diecine; ma siamo ben lontani di avere dei quadri completi anche solo per tutte le piante agrarie fondamentali.

Come può immaginarsi questa ricognizione è relativamente facile per piante erbacee annuali, mentre è molto più complesso per le piante arboree poliennali, specialmente quelle da frutto; a parte le ragioni citate più sopra, basterebbe il fatto che vi è interessata una serie di organi ben maggiore, ad es., che non in piante boschive.

Un particolare da tener presente è che le carenze, anche quando siano modiche e pare presentino dei vantaggi commerciali, si riducono sempre ad una perdita per l'agricoltore. Così una leggera Fe-carenza del Melo porta ad un colore di fondo dei frutti giallastro invece che verdognolo, per cui le mele sono meglio accette sui mercati; ma vi corrisponde sempre una diminuzione nella produttività degli alberi, che non compensa affatto, dal punto di vista economico, questa miglior presentazione.

A continuazione diamo una chiave generale delle carenze degli alberi fruttiferi (soprattutto Pomacee e Drupacee), dedotta da varie chiavi o descrizioni, notando che ha valore solamente per le carenze manifeste

(vedi oltre) e se dovute solamente alla deficienza di un elemento, in presenza di dosi normali degli altri.

A) piante non inizialmente clorotiche

1) formazione di rosette fogliari agli apici dei rametti raccorciati; foglie sottili e corte; talvolta macchiettature o clorosi intervenale . . . . carenza di zinco

2) senza rosette fogliari

I) senza necrosi o con necrosi poco significative

a) foglie giovani di color verde-scuro o verde-bluastro, e talvolta con « scottature » marginali come nella K-carenza; presenza di antociani nel fusto delle foglie, specialmente in quelle apicali; fioritura e fruttificazione scarse come nell'N-carenza; fruttificazione o maturità talvolta ritardate, e frutta acidula, talvolta di sapore sgradevole; crescita vegetativa ridotta . . carenza di fosforo

II) necrosi manifeste ed accentuate

a) collasso rapido e avvizzimento precoce delle foglie

*) collasso, poi avvizzimento rapido delle foglie; rami e e piccioli fogliari talvolta molli; apici vegetativi sempre più lesi con l'avanzare della maturità . . . . carenza di calcio

b) eventuale avvizzimento tardivo

*) disseccamento ad andamento centripeto, spesso con gommosi, deformazione o ingrossamento dei rami . . . . carenza di rame

**) piante non o poco nane; foglie (specialmente quelle vecchie) « bruciacchiate » o secche ai margini e alle punte; margini fogliari talvolta ricurvati od ondulati sino ad arricciati; spesso con disseccamento dei rametti a partire dall'apice e con andamento centripeto; fioritura normale o quasi, ma con forte cascola; frutti piccoli, a maturazione tardiva e legnosetti . . . . carenza di potassio

***) piante nane per necrosi degli apici vegetativi; tessuti carnosi dei frutti abbruniti, suberosi o morti; foglie,

fusto e radici meno sviluppati che di norma, deformati, poi decolorati ed infine morti . . . .
. . . . carenza di boro

B) piante nettamente clorotiche dall'inizio

1) ingiallimento uniforme degli organi piuttosto che decolorazione a macchie

I) scarso sviluppo vegetativo delle piante, che rimangono dure e rigide; foglie (specialmente se giovani) giallognole, piccole, facili a cadere, poi secche prematuramente; fioritura e fruttificazione scarsa; frutta piccola ma ben colorata e dolce; scorza degli alberi talvolta rossiccia o bruno-chiara . . . . .
. . . . carenza d'azoto

II) piante non o poco nane; foglie verdi-pallide, con le venature spesso più chiare del tessuto intervenale . . . .
. . . . carenza di zolfo

2) piante con decolorazioni a chiazze, a macchie, a punti, a mosaico, ecc.

I) decolorazione apparente prima o meglio nei tessuti giovani

a) foglie giovani giallognole sino a brunastre, talvolta con la nervatura mediana e le nervature principali verdi, con l'aspetto di un mosaico a reticolatura; le foglie più vecchie tutte clorotiche o con aree clorotiche; disseccamento dei rametti ad andamento centripeto; fruttificazione anche abbondante, ma con frutti poco zuccherini e a fondo decolorato anzichè verde . . . .
. . . . carenza di ferro

b) foglie giovani macchiettate o picchiettate, con le nervature verdi e il tessuto internervale giallognolo, di solito con piccole aree necrotiche; le foglie più vecchie sono più clorotiche, e la clorosi progredisce a V verso il centro della foglia; infine si ha il disseccamento . . . .
. . . . carenza di manganese

II) decolorazione apparente prima o meglio nei tessuti vecchi; foglie vecchie molto macchiettate o picchiettate; tessuto internervale giallo-pallido sino a biancastro, con nervatura mediana e vene laterali principali verdi; la decolorazione si

diffonde dal margine al centro della foglia; defogliazione precoce e talvolta repentina, con necrosi finale del parenchima fogliare; frutta che non maturano o maturano male e lentamente, a consistenza legnosetta e poco gustosa . . . . carenza di magnesio

Oltrechè per la carenza di un solo elemento, questa chiave analitica vale anche per una normale somministrazione di altri fertilizzanti (anche solo fosforo, potassio ed azoto), quindi senza eccesso o difetto degli altri elementi, come si è detto; ma la sintomatologia può variare persino con la forma di azoto somministrata.

Carenze fruste e policarenze.

Per quanto si è detto poc'anzi, si è partiti dall'ipotesi — che in realtà si è dimostrata troppo semplicistica — che ad ogni carenza, sia pur lieve, corrispondesse una certa sintomatologia, e che non vi fossero interferenze sintomatologiche tra le varie carenze, o per lo meno non tali da offuscare il quadro dell'accertamento sintomatologico.

Ma era noto da tempo che la somministrazione di elementi micronutritivi a piante senza sintomatologia di carenze, portava spesso ad un miglioramento nella qualità del prodotto, o ad un aumento nelle rese, o ad entrambi i fatti. Si è poi parlato allora di carenze occulte o carenze fruste, e oggi ne sono note per vari elementi (come Mn, Fe, Zn B e persino, apparentemente, Co e Ni) per varie piante agrarie anche di grande cultura, inclusi i Cereali. Anzi si fa strada l'idea che le carenze fruste siano forse ancora più frequenti di quelle manifeste, sfuggendo però all'indagine appunto in quanto non visualizzabili dai sintomi. Queste carenze occulte paiono presentarsi anche in suoli che si stimano di alta fertilità.

Nel contempo si è visto che i casi di carenze multiple o policarenze sono molto più frequenti di quanto non si fosse creduto; così per la carenza di un elemento conclamata attraverso la sintomatologia, e collegata a qualche altra carenza (od anche a qualche eccesso) di un costituente minerale del suolo, onde occorrerà riportare la pianta all'equilibrio fisiologico provvedendo, oltrechè alla somministrazione dell'elemento carente in maniera manifesta, anche alla correzione rispetto agli altri.

Un caso classico è stato quello delle terre di bonifica del South Kent in Inghilterra ove, oltre alla conclamata deficienza di Mn, si è accertata

la deficienza di ben cinque altri elementi, per cui la somministrazione alle piante del solo Mn portava all'aumento di un quarto circa del prodotto, mentre occorreva la somministrazione degli altri cinque elementi per incrementare i restanti tre quarti del raccolto.

Non soltanto: la somministrazione dell'elemento di cui vi è carenza secondo la sintomatologia delle piante, può portare alla scomparsa dei sintomi di carenza, senza che per ciò ne segua un aumento nel raccolto. Ciò fu accertato bene in culture di Patate della regione suindicata, in cui — scrive ROACH — la nebulizzazione delle piante con una soluzione di solfato di manganese ebbe effetti sorprendenti nel ricupero del colore delle foglie, ma il raccolto non aumentò; con la nebulizzazione di solfato di zinco, non si ebbero reazioni visuali, ma il raccolto aumentò di una certa quantità; nebulizzando le piante con le soluzioni dei due sali, si ebbe un aumento medio del quadruplo (e persino di undici volte) rispetto alla somministrazione del sale di zinco. Ma il normale raccolto potè ottenersi solamente con la somministrazione di sali di ben sei elementi diversi. Evidentemente, alla conclamata carenza di Mn era associata una criptocarenza fondamentale di Zn, ed una sussidiaria di altri quattro elementi.

Inoltre l'esistenza di una carenza può essere occultata, sino a un certo punto almeno, dall'eccesso di qualche altro elemento fertilizzante nel suolo. Particolarmente, una lauta concimazione azotata può portare ad una notevole attenuazione delle decolorazioni fogliari, e persino al ripristino del colore normale; ma il miglioramento può essere solo apparente, e la deficienza nella produzione — qualitativa o quantitativa che sia — permanere.

Rimane curioso (e inesplicabile) il fatto che dei sintomi di carenza di un elemento possano essere riprodotti da una somministrazione in eccesso dell'elemento stesso a piante sane. Tale è il caso del Melo, citato pure da ROACH, per cui iniettando alle piante sane vari sali di potassio (e segnatamente il nitrato potassico) si riproduce quel disseccamento o ustionamento fogliare marginale, che è appunto caratteristico della deficienza di potassio.

Tutto ciò conduce alla necessità dello studio delle interferenze reciproche tra gli elementi nutritivi, che dovrà essere intrapreso alla luce delle conoscenze circa le soluzioni equilibrate e la permeabilità delle piante agli ioni, e che si è appena iniziato. Ma qualche interferenza è già nota; ad es., quella tra K e Mg, sapendosi che la Mg-carenza è generalmente associata ad un alto livello del K nel suolo; tale sarebbe anche la ragione per la quale è difficile curare la Mg-carenza con somministrazioni

di dosi anche altissime di solfato di magnesio al suolo, quando piccole dosi di questo sale somministrate per nebulizzazione delle piante fanno scomparire i sintomi di carenza. Egualmente ben nota è l'interferenza negativa tra Fe e Ca, che ha sede non solo nel suolo, ma anche nella pianta, e che di frequente annulla l'efficacia della somministrazione di sali di ferro non solo al suolo, ma direttamente alle piante. Anche per la Fe-carenza può aversi talvolta (soprattutto nelle ricadute di carenze previamente curate) una scomparsa — generalmente transitoria — della sintomatologia fogliare, senza che ne segua l'aumento o il miglioramento del raccolto.

D'altro canto K e Fe si sinergizzano negativamente a vicenda; così su un evidente carenza di Fe, una relativa deficienza di K porta ad un aggravamento dei sintomi. Aumentando gradualmente la dose di K, i sintomi della carenza di Fe si attenuano pure gradualmente, sinchè rimane soltanto una quasi impercettibile clorosi delle foglie, in certe piante — come la Patata — connessa però con una crescita vigorosa. Allo stesso modo la Mg-carenza del Pomodoro è attenuata per somministrazione di forti dosi di N, mentre è accentuata da forti dosi di K.

Gli antagonismi noti o ragionevolmente supposti sono numerosi; ricordiamo, ad es., i seguenti : N-P ; N-K ; K-Mg ; P-K ; N-Ca ; Na-Ca ; K-Ca ; Mg-Ca ; Ca-Mn ; Ca-Fe ; K-Mn ; Mn-Fe ; Zn-Fe ; ecc. A questo proposito è notevole il fatto dell'interferenza reciprocamente positiva o negativa del Cu rispetto al Fe : mentre parrebbe che nelle piante — analogamente a quanto si ha negli animali — tracce di Cu catalizzino l'attività del Fe, dosi elevate di quell'elemento sembrano interferire negativamente con il metabolismo di quest'ultimo elemento.

E' evidente che, sotto questa luce, occorrerà riesaminare gran parte del materiale sperimentale sino ad oggi accumulato, ed estendere l'indagine a carenze degli altri elementi fondamentali, anche quando la sintomatologia visuale porterebbe alla definizione di carenza di un solo elemento. Infine l'esistenza di carenze non visualmente manifeste induce ad estendere l'indagine circa l'eventuale deficienza di elementi nutritivi ai casi di raccolti depressi, quantitativamente o qualitativamente, senza cause evidenti.

Tecniche sperimentali per l'accertamento delle carenze in campo.

Le incertezze nell'accertamento delle carenze in campo attraverso i sintomi visuali, hanno indotto gli studiosi ad accertarle attraverso delle prove sperimentali, alcune delle quali sono alla portata di tutti.

Premettiamo che i metodi diretti di accertamento attraverso le analisi chimiche sono tuttora impiegati, ma per scopi prevalentemente scientifici e di studio. Il metodo meno recente è l'analisi dei costituenti del suolo, per le quali vi sono numerose tecniche che vanno dai saggi classici a quelli rapidi, microchimici o semi-microchimici, generalmente per via colorimetrica od opacimetrica, ai più recenti, rapidi e precisi metodi spettrometrici, oltrechè a metodi serventi per scopi speciali (ad es., quelli polarografici). Non crediamo sia il caso di dilungarci su questo argomento, osservando soltanto che i metodi di ordinaria analisi chimica generalmente sono lunghi se precisi, e approssimati se rapidi. Comunque la maggiore limitazione sta nel fatto che il dato analitico del suolo (anche se ci dà l'elemento scambiabile, vale a dire teoricamente a disposizione delle piante, limitatamente a quelli per cui si può ottenere questo dato) ci lascia all'oscuro nei riguardi della pianta. Come si è fatto cenno in precedenza, l'assorbimento di un certo numero di elementi può essere indipendente dalla loro presenza nel suolo anche in forma assimilabile. In conseguenza il dato analitico chimico può indicare la disponibilità di un dato elemento nel suolo ed eventualmente la presenza in forma scambiabile, ciò che non significa affatto che la pianta possa assorbirlo e nelle quantità necessarie.

Pure a scopi sperimentali è stato sviluppato il metodo di analisi di ceneri delle piante per organi opportunamente scelti (tralci, rametti, foglie, ecc.) e in condizioni standardizzate di prelevamento dei campioni. A parte le difficoltà di ordine chimico-analitico di cui in precedenza, il metodo ha valore principalmente per studiare il metabolismo dei vari elementi nella pianta nei tempo, o sotto condizioni ecologiche od agrologiche differenti, e come tale ha reso buoni servigi. Il fatto che un elemento sia deficiente nelle ceneri rispetto ai testimoni può, però, non significare che la pianta ne sia in carenza. Ad es., negli studi da noi condotti sulla cosidetta « moria » del Pero nella Venezia Tridentina, si è accertata una carenza di zinco nelle ceneri delle piante ammalate di fronte a quelle sane; ma le piante suddette non risposero alla somministrazione di sali di zinco, quale che fosse la dose o la forma di somministrazione, dal che la logica ipotesi che la carenza di zinco sia un fatto legato alla deficienza di auxine, a sua volta connesso con le ridotte o nulle attività meristematiche nella vegetazione primaverile di rinnovo. Parallelamente, la presenza nelle ceneri di un elemento nelle quantità medie ottimali (ed anche supraottimali) non significa necessariamente che le piante non possano esserne in carenza. E' ben noto l'esempio degli alberi fruttiferi mostranti la clorosi dovuta a carenza di ferro, le cui ceneri hanno generalmente più

ferro che non quelle di piante sane; probabilmente però non nella forma necessaria, ciò che l'analisi delle ceneri non rivela.

Per queste ragioni, più che a metodi diretti d'analisi, si ricorre oggi ai metodi di diagnosi fisiologica a carattere empirico, ma più probativi di quelli. Ne facciamo un rapido cenno.

I metodi per cultura nel suolo di piante spie è piuttosto un metodo di laboratorio che di campo. Consiste nel coltivare, in un volume ridotto del suolo in esame, un numero notevole di piante specialmente esigenti in un elemento nutritivo : le piante andranno facilmente in carenza di quell'elemento, se il contenuto non sorpasserà certe soglie. Le piante possono essere anche delle Crittogame; così, per scopi speciali, si impiegano delle muffe (generalmente degli Aspergilli, Mucorali, ecc.), ed allora coltivate in estratti di suoli, studiandone quindi o la resa in peso secco del fungo, o certe caratteristiche dello sviluppo (ad es., la produzione di conidi), o la colorazione di certi organi, ecc.

Per scopi più direttamentte agrari, in un volume ridotto di suolo si coltivano un gran numero di plantule da seme ad alto fabbisogno in un qualche elemento, osservando quindi se si manifestano dei sintomi di carenza, con quale frequenza e con quale precocità. Ad es., WALLACE indica Cavoli per N, Ca, Fe e Mo (subordinatamente anche P, K, e B), il Cavolfiore più specialmente per il K, la Patata per K e Mg (e subordinatamente per P e Mn), Barbabietole e piante simili per B e Mn, Rapa per il P (e subordinatamente per N, Ca e Mg; solo per certe razze anche il B); l'Avena per il Mn, vari Legumi per il P, Ca, K, Zn, B e Mo, ecc. Questo metodo, però, non ha avuto sinora vaste applicazioni.

Molto più impiegati, in quanto più semplici e rapidi, sono i metodi diagnostici per diretta somministrazione degli elementi alle piante, sotto forma di sali. Il metodo meno recente è quello di somministrare i sali alle piante cospargendoli sul suolo attorno al piede (e generalmente per il perimetro della chioma), ma tale metodo soffre di due inconvenienti : l'accertamento della scomparsa dei sintomi di carenza può tardare, e soprattutto si può avere un'interferenza negativa dei poteri di adsorbimento e di scambio del suolo, che fissano o comunque immobilizzano l'elemento sì da non renderlo disponibile alla pianta. Inoltre sono necessarie delle notevoli quantità di sali per pianta, se si vuole essere sicuri di elevare sensibilmente il tenore in quell'elemento della soluzione circolante nel suolo.

Si sono quindi escogitati dei metodi che mettono a diretto contatto i sali nutrizionali con la pianta. Tra questi metodi il meno recente, per le piante arboree soprattutto, è quello di perforare il fusto dell'albero, im-

mettendovi il sale desiderato sotto forma di polvere o di cristalli, o addirittura di compresse previamente dosate, nelle quantità volute, lutando quindi il foro con del mastice. All'uopo si sono studiati anche degli speciali succhielli. Il metodo è parecchio grossolano, e non scevro d'inconvenienti, per il fatto del trauma che si produce alle piante (e per le possibili infezioni di origine microrganica successive), e perchè localmente si ha una concentrazione del sale tale da produrre anche dei fatti necrotici. Per le Drupacee facili a produrre gomma, tale metodo, ad es., è del tutto sconsigliabile.

I moderni metodi sono invece, eleganti, facili, poco laboriosi e rapidi; per una discussione e delle recenti modificazioni, rimandiamo ad un lavoro di G. Scaramuzzi per l'accertamento delle carenze del Tabacco. Sono questi i cosidetti metodi di diagnosi fogliare, in cui l'assorbimento del sale viene effettuato da parte della nervatura principale di una foglia, oppure del picciuolo od al massimo da un rametto verde. Tale assorbimento raramente si pratica attraverso delle iniezioni, sia a mezzo di aghi da siringa connessi con delle fiale contenenti le soluzioni, che attraverso le punte acuminate delle fiale stesse. Più spesso si effettua « cucendo » un frammento di filo di cotone, previamente imbevuto nella soluzione del sale e fatto seccare, nella nervatura mediana o nel picciuolo fogliare: le tracce del sale che sono assorbite dall'organo modificano, attenuando od annullando la sintomatologia della carenza nella foglia penetrata dal filo e in qualcuna delle foglie vicine.

Poichè si ha un assorbimento di soluzioni saline diluite anche attraverso le foglie integre e illese, un altro metodo consiste nel bagnare una o qualche foglia con la soluzione opportunemente resa « bagnante » con qualche sostanza tensioattiva. Attraverso la cuticola penetrano solo delle quantità infinitesimali di ioni, ma sufficienti ad attenuare o far scomparire i sintomi di carenza nelle foglie stesse o in quelle che si svilupperanno nello stesso rametto.

Poichè è opportuno ripetere più volte la diagnosi fogliare su ogni pianta, da questo metodo si è passato a quello, altrettanto semplice ma effettuato su più vasto materiale di prova, di nebulizzare con le soluzioni saline una parte della chioma dell'albero di prova (ad es., la metà o meno), senza nebulizzare il restante. Per assorbimento fogliare la reazione viene estesa a tutta la porzione di chioma trattata. Crediamo sia questo il metodo che, alla facilità di impiego, unisce l'economicità e soprattutto una larga attendibilità della prova.

Non facciamo neppur cenno al metodo per assorbimento di quantità notevoli di soluzioni attraverso una radice tagliata sott'acqua o attraverso un ramo sezionato, oggi disusato.

Come si vede, si hanno a disposizione tutta una serie di metodi che vanno da microsaggi su una o poche foglie a saggi su una parte delle chiome degli alberi, che sono a disposizione e alla portata, nonchè dei tecnici agrari, anche degli agricoltori che vogliono applicarli.

Interazioni e interferenze tra nutrizione minerale, suolo e altri fenomeni fisiologici nelle piante.

Prendendo in considerazione i successivi passi nel metabolismo minerale delle piante, anche in base a quanto si è detto in precedenza, le carenze delle piante possono aversi, rispetto ad un dato elemento, nei seguenti casi:

1) L'elemento manca nel suolo o vi si trova in quantità inferiori al fabbisogno della pianta. Nei mediani terreni a cultura arborea d'Italia il caso non è del tutto frequente. Uno degli esempi più evidenti se ne ha in certe zone frutticole della Venezia Tridentina, rispetto alla carenza di boro da parte delle Pomacee, che abbiamo descritto altrove. Ma sinora è stato osservato saprattutto in particolari giaciture, e cioè ove lo strato di terreno esplorato dalle radici delle piante è ridotto e limitato inferiormente da un cappellaccio (« gis ») assolutamente impervio. E' possibile che in circostanze analoghe si possano avere delle carenze di zinco, anche sotto forma di carenze fruste.

2) L'elemento si trova nel terreno in quantità sufficienti al normale fabbisogno delle piante, ma sotto condizioni tali che queste non riescono ad assorbirne la quantità loro necessaria. Lo studio di questo fatto è molto complesso, entrando in gioco i numerosi fattori d'ordine chimico e fisico-chimico del suolo, non sempre ben conosciuti, che includono sopratutto il meccanismo di scambio degli ioni e del loro fissaggio, assieme ai poteri tampone del terreno.

3) L'elemento si trova nel suolo nella quantità e nella forma sufficiente perchè la pianta lo assorba, ma si realizzano condizioni tali che questa non riesce ad assimilarlo, vale a dire non sembra compiere le funzioni alle quali è destinato. E' questo un caso piuttosto supposto che sperimentalmente accertato, data anche la nostra fondamentale ignoranza circa il biochimismo del più degli elementi micronutritivi delle piante, con eccezione forse del ferro. Si è già fatto cenno del fatto che piante con sintomi di Fe-carenza possono accumulare nelle ceneri più ferro delle piante sane e normali. Forse un po' troppo semplicisticamente,

tale carenza di ferro si è attribuita ad una insolubilizzazione di questo elemento; ma abbiamo elementi per ammettere che possa essere legata a deficienza o ad eccesso di altri elementi.

Intanto è nozione comune che le carenze di Fe, Mn e Zn sembrano presentarsi sotto condizioni simili di terreno, talvolta nella stessa piantagione e nelle stesse piante. QUARTAROLI, in base alle proprie osservazioni, aveva emesso una teoria della coattivazione reciproca per coppie di elementi, come quella già citata Fe :Cu, ma forse pure Zn :Mg, che a sua volta sarebbe connessa con la coppia Ca :Mg; secondo LUCAS, entrerebbe in gioco anche la copia Cu :Zn. Ma i fatti portano a sconfinare da questo ambito; ad es., è noto come la Fe-carenza possa essere legata ad un accumulo di K, in modo che le foglie giovani tendono ad accumulare K a spese delle vecchie, nelle quali si hanno i sintomi di K-carenza. HEINZE aveva osservato che i sintomi di Mn-carenza possono essere più acuti laddove il livello dell'N è più alto, e le piante Mn-carenti contengono spesso più N di quelle sane e normali. M. BRUNO ha dimostrato recentemente che le piante di Melo affette da Zn-carenza contengono nelle foglie più N, Ca ed Mg che le foglie sane e normali, ma dalla metà a un quarto solamente dello Zn. Si è accertato nella pratica che le Zn-carenze si curano meglio se assieme allo Zn si somministra del Cu. Anche nei riguardi del B si sta facendo strada l'idea che il suo metabolismo sia intimamente legato a quello del Ca, il quale ultimo elemento, in ogni modo, interviene come ione antagonista nelle soluzioni nutritizie.

Qualche ulteriore complicazione si ha nel fatto che l'eccesso di qualche elemento (e persino di elementi non nutritizi per le piante) può portare alla carenza di altri. Non è nostro compito entrare nell'altrettanto complesso insieme di problemi della tossicità per eccesso di elementi nelle piante, problema pur connesso con quello della carenza, non foss'altro che per il fatto che la zona di contenuto ottimale delle piante in qualche elemento (ad es., B) è molto ristretta, cosicchè la dose ottimale non è lontana da quella tossica. Per dare un esempio, ricorderemo che l'eccesso di alluminio può simulare una carenza di P, e può essere benissimo, infatti, che la P-carenza possa essere provocata da un eccesso di Al. Un eccesso di Cl porta nelle foglie a quella particolare ed evidente sintomatologia data dalla K-carenza (scottature e disseccamenti marginali), con la differenza però che non ne è affetta la crescita dei rametti, e la lunghezza degli internodi rimane normale. Infine, se il Cu attiva l'efficacia del Fe e dello Zn, un eccedente di Cu può portare ad una clorosi del tipo di quella da Fe-carenza.

Queste incomplete ed imperfette nozioni non potranno uscire dal puro accertamento empirico sinchè non saranno meglio note le funzioni dei singoli elementi nelle piante ,e sopratutto quelle dei metalli pesanti; i dati che abbiamo in mano starebbero ad indicarci che tali metalli pesanti sono connessi con la genesi e la funzione di sistemi enzimatici e sopratutto respiratori (particolarmente nei sistemi datori-accettori di idrogeno ed in quelli ossidoriduttori in generale), non chè alla genesi di vitamine, principi del bios ed altri fitormoni, incluse le auxine, ma anche a principi organici specializzati delle piante, quali alcaloidi, principi essenziali, glucosidi, ecc.

Della probabilmente lunga e complessa catena di reazioni nelle quali intervengono tali elementi, generalmente noi conosciamo bene i composti di partenza e più o meno bene quelli di arrivo o finali; degli intermediari quasi sempre abbiamo delle nozioni isolate e non molto sicure. Lo schema di ELVEHJEM può darci ragione, nello stesso tempo, dell'accumulo di tali intermediari e della possibile insufficienza dei nostri metodi curativi. Supponiamo che somministrando alla pianta un elemento sotto la forma di A si giunga ad un prodotto finale in cui l'elemento si ritrova sotto la forma C; supponiamo pure che a questo scopo il composto A si combini con un diverso composto X in modo da formare l'intermediario Y il quale, per catalisi, darà il composto finale C:

$$A + X = Y \qquad\qquad Y \longrightarrow C$$

Il composto A sarà assorbito soltanto nella misura in cui potrà combinarsi con il composto X e, a sua volta, il composto C potrà formarsi soltanto in misura nella quale si ha la catalisi da Y a C. Aumentando la dose di A sino ad un certo punto si avrà l'aumento dell'intermediario Y, e oltre questo limite non si avrà alcun effetto; in ogni caso la quantità di C non ne risentirà. Attivando invece la catalizzazione di Y in C, si avrà un aumento di C ed insieme un aumentato consumo di A. Poichè è probabile che nelle piante queste reazioni siano collegate in serie nelle quali intervengano vari elementi, inclusi — se non sopratutto — quelli micronutritivi, se ne deduce come soltanto la somministrazione simultanea di più elementi può elevare il metabolismo generale della pianta; di ciò, come si è detto anche in precedenza, si hanno delle prove pratiche e sperimentali.

Per quanto si riferisce al suolo, e prevalentemente sotto l'aspetto pratico, ci limiteremo ad osservare che i suoli argillosi e quelli ad alto contenuto in sostanze organiche, per le caratteristiche colloidali e chimico-fisiche della frazione argillosa e dell'humus, intervengono attiva-

mente, per via fisico-chimica oltrechè chimica, con il risultato finale possibile dell'immobilizzazione di certi elementi micronutritivi nonchè di P e di K. Dei poteri di assorbimento e di scambio delle argille si possono dare delle spiegazioni che non valgono per la frazione organica, ond'è che si sta facendo strada l'idea di un « fissaggio biologico » dei metalli — specialmente di quelli micronutritivi — per una vera e propria competizione tra piante e microrganismi del suolo, in base alla quale, in caso di non troppo alte quantità dell'elemento presenti nel terreno, i microrganismi sarebbero più rapidi o più attivi nell'assimilare l'elemento, sottraendolo alle piante, che andrebbero in carenza.

Sul contenuto in certi elementi e il potere di ritenzione del suolo degli stessi incide fortemente la reazione (pH) del terreno. I suoli acidi sono quasi sempre poveri di Ca, K e Mg, ed hanno una scarsa riserva di N e di C; il potere di ritenzione degli elementi micronutritivi è basso, cosicchè questi sono facilmente dilavabili dall'acqua che percola o scorre via; in compenso gli elementi presenti sono bene ed immediatamente disponibili per le piante, salvo forse il Mo. Da noi i problemi dei suoli acidi sono relativamente rari e poco importanti, e vanno sopratutto dalla possibile deficienza di Ca al possibile eccesso di Mn e di Al. I suoli alcalini per eccesso di calcare hanno di solito un'alta disponibilità per le piante di N e di P; una disponibilità varia, a seconda della natura della roccia madre e di altri fattori, di Mg e K; una disponibilità bassa, in generale, degli elementi micronutritivi, salvo forse il Mo. Infine i suoli ad alto contenuto di sostanza organica possono aumentare la disponibilità del Fe per le piante, ma abbassare sino ad annullarla quella di Mn, Cu e Zn.

L'aereazione del suolo influenza anche la nutrizione minerale: un eccedente d'acqua, quasi sempre connesso con una deficiente aerazione, porta ad un effetto depressivo sulla respirazione delle radici, che altera il potere di assunzione degli ioni, cosicchè non sono difficili le carenze di Ca, K, N e P. In condizioni di buona aereazione, al contrario, sono meno facilmente mobilizzabili Mn, Fe e forse altri elementi.

Sembra vi siano delle interferenze anche tra certe tecniche agricole in generale (e più specialmente arboricole) e metabolismo minerale; ma le nozioni che abbiamo sono scarse e confuse.

Varie e poco note, ma forse importanti, sono le interferenze tra carenze ed altri accidenti delle piante. La nozione che a una nutrizione completa ed equilibrata dalle piante corrisponda un più attivo metabolismo, e quindi un maggior vigore, non è senza interesse nei riguardi della resistenza delle piante a malattie e ad altri accidenti. Ad es., le piante Fe-

carenti sono più suscettibili ai danni dalle gelate e, di converso, delle iniezioni di sali di Fe inducono una resistenza a questi accidenti meteorici.

Vi è buon motivo di supporre che vi siano delle interferenze anche tra nutrizione minerale delle piante e fatti patologici per malattie indotte da microrganismi parassiti. E' stata così affacciata l'ipotesi che l'efficacia di certi composti organici anticrittogamici si abbia nella formazione di complessi metallorganici del tipo « chelati » che bloccherebbero la disponibilità di qualche metallo micronutritivo. Ancorchè quest'ipotesi non sia stata riconfermata sperimentalmente da noi stessi in collaborazione con Baldacci (per una ossichinolina e lo Zn) è possibile qualche interferenza del genere, ciò che spiegherebbe il risultato di alcuni recenti esperimenti di lotta per via endoterapica di certe vascolariosi delle piante d'origine fungina.

La concimazione minerale supraottimale delle piante.

Il problema della micronutrizione minerale supraottimale delle piante sta emergendo in questi utimissimi anni. In breve, consiste nel fatto che somministrando a piante normali e sane (vale a dire senza sintomi visuali di carenza) delle piccole quantità di elementi micronutritivi, si ha talvolta un miglioramento nella qualità del prodotto, talvolta un incremento nel peso del prodotto, e talvolta l'uno e l'altro fatto. Non si hanno affatto idee chiare circa gli elementi e le dosi, ma sembra che una modestissima, sebbene ripetuta applicazione di piccole dosi di sali dei vari elementi micronutritivi, nell'insieme porti a tali benefici risultati.

Poichè non si osservano sintomi di carenza, nè sono rilevabili attraverso i testi biologici di cui in precedenza, non si potrebbe parlare neppure di carenze fruste; si può però supporre che vi siano, al disotto dell'ottimo di ogni elemento micronutritivo, delle dosi che non sono così basse da produrre nessuna sintomatologia di carenza (per lata che possa essere), ma neppure all'ottimo perchè la pianta produca il massimo e il migliore. In altri termini si potrebbe, per lo meno in via teorica, introdurre l'idea di carenze occulte.

Una sperimentazione in merito — delicata e necessariamente lunga — circa la somministrazione continuata durante vari anni di piccole quantità di elementi micronutritivi alle piante, non sembra sia stata effettuata; vi sarebbero però degli elementi positivi, ad es., nell'uso di nitrati naturali (nitrati del Cile) rispetto ai nitrati sintetici, dato che i primi conterrebbero in minime quantità degli elementi micronutritivi ed altri che mancano ai secondi.

E' evidente che non si deve in nessun modo eccedere nella somministrazione di elementi minerali micronutritivi alle piante che non mostrano sintomi visuali di carenze, poichè per certi elementi — ad es., il boro — i limiti ottimali sono notevolmente vicini a quelli tossici. La formula migliore rimane dinque quella di piccole quantità somministrate ogni anno attraverso, ad es., la concimazione minerale ordinaria o quella organica.

Cura e prevenzione delle carenze.

Il metodo di cura delle carenze è ovvio: somministrare alle piante gli elementi di cui abbisognano; ma talvolta si ha qualche difficoltà ad attuarlo in maniera facile, semplice ed economica.

Il metodo più vecchio e tuttora più impiegato è quello della diretta immissione nel suolo dei sali di elementi micronutritivi, in una vera e propria concimazione oligodinamica. Alcuni sali debbono essere somministrati al suolo in piccole quantità ma ripetutamente, in quanto non si fissano o quasi nelle argille, essendo facilmente quindi dilavati dalle acque; tale è il caso, ad es., del boro. Altri elementi, nel caso di carenza dichiarata, sono richiesti così da giustificare una immissione a parte; tale è ad es., il caso dei truttiferi Zn-carenti, per i quali occorrono duecento grammi ed anche più di solfato di zinco per pianta.

Per questa via, e in generale per tutti gli elementi, necessitano delle dosi notevolmente più alte che di norma, se le carenze sono connesse a peculiari caratteristiche fisico-chimiche o chimiche del suolo, per i poteri di fissazione e di insolubilizzazione; ad es., in suoli fortemente calcarei o con un'alta frazione argillosa reattiva od humosi, torbosi, ecc.

Qualora sia possibile, il miglior metodo di somministrazione diretta al suolo degli elementi nutritivi, sia oligodinamici che gli altri, è quello della subirrigazione con soluzioni minerali diluite, immesse a pressione direttamente nella sfera dell'apparato radicale delle piante arboree. Questo mezzo assicura la più rapida e una certa assunzione degli ioni da parte delle piante.

Ci sembra utile, in questa sede, affrontare il problema delle dosi, che variano secondo i molti fattori che sono stati lumeggiati in precedenza.

Per le ragioni anzidette è da sconsigliare, in via generale, l'immissione dei sali agli alberi fruttiferi attraverso la trivellazione di un foro nel tronco; a tale metodo si può ricorrere soltanto allorchè nessun'altra via di somministrazione sia accessibile all'agricoltore.

Il metodo della nebulizzazione di soluzioni diluite saline è il più sicuro e il più rapido per l'azione, ma è anche il metodo di efficacia più effimera, e per carenze conclamate la somministrazione per questa via dell'elemento deficiente deve essere ripetuta più volte nel corso di un anno. Le soluzioni debbono essere rese bagnabili e molto diluite. Il dosaggio è reso difficile dal fatto che, oltre alla soglia minima della dose, ad un aumento della concentrazione segue un aumento di efficacia che va sino ad un certo limite, oltre il quale vi è un decremento nelle rese. Se questo limite fosse eguale a quello tossico, sarebbe semplice attenersi a dei dosaggi appena inferiori a quelli tossici; ma invece è al disotto.

Per economizzare nel costo dei trattamenti contro le carenze, sono in corso, in vari luoghi, delle prove di abbinamento con altri trattamenti, generalmente con quelli antiparassitari, e sinora con risutati favorevoli. Così le carenze di zinco sembra possano essere efficacemente combattute mescolando alla poltiglia bordolese (o ad altri composti e complessi cuprici) delle quantità notevoli di solfato di zinco. Parrebbe aversi una efficacia anche se il sale di zinco è somministrato alle piante nei trattamenti ai fruttiferi eseguiti durante il riposo della vegetazione, assieme agli ordinari trattamenti invernali.

Il problema è diverso qualora si debbano effettuare dei trattamenti preventivi che sono consigliabili anche allorquando non si hanno manifestazioni di carenze conclamate o fruste, per le ragioni precedentemente indicate, secondo le quali delle piccole dosi supraottimali degli elementi micronutritivi portano ad un miglioramento nella qualità del prodotto o ad un aumento nel tonnellaggio o a entrambi i risultati.

Fermamente crediamo che nel futuro la concimazione micronutritiva delle culture specializzate (ad es., di fruttiferi, di ortaggi, di piante da fiore, di culture industriali del tipo Tabacco e Barbabietola) diverrà una pratica usuale, poichè l'aggravio del costo è insignificante rispetto al vantaggio, qualora questa concimazione venga abbinata con quella minerale usuale o con quella organica corrente, oppure con i soliti trattamenti antiparassitari.

La somministrazione, ripetuta più volte durante il corso dell'anno alle piante agrarie di dosi molto piccole, offre vantaggi sulle somministrazioni effettuate con altre modalità, poichè è ormai accertato che piccole dosi ripetute sono più vantaggiose (e più economiche) di un solo trattamento massivo; ad es., se la concentrazione ottimale di un sale fosse quella dell'1 %, risultati migliori si otterrebbero con quattro o cinque applicazioni soltanto allo 0,1 %. Inoltre i bisogni delle piante variano secondo le

specie e lo stadio di sviluppo; così mentre le richieste di elementi micronutritivi dei Cereali si abbassano con il crescere dell'età delle piante, aumentano, al contrario, per gli ortaggi; varie somministrazioni di piccole dosi permettono dunque di far fronte nella miglior maniera al fabbisogno delle piante. Infine i trattamenti precoci paiono influenzare il tonnellaggio del prodotto, mentre quelli tardivi sarebbero piuttosto a vantaggio della loro qualità, e le somministrazioni scalari permettono alle piante migliori condizioni di vita nei due casi.

La miscelazione agli ordinari concimi minerali dei sali micronutritivi nelle dosi medie richieste dalla piante è il mezzo più economico per apportare annualmente al suolo delle piccole quantità ausiliarie di elementi micronutritivi. Sarebbe opportuno che venissero studiate varie formule in modo da rendere le concimazioni meglio adatte ai fabbisogni delle specie di grande cultura, dato che si manifesta ormai generalmente la tendenza dell'impiego di concimi chimici opportunamente miscelati o combinati in modo che rispondano alle esigenze di ciascuna delle principali culture agrarie. Tale miscelazione è preferibile sia affettuata dalla case fabbricanti o che mettono in vendita i concimi minerali, per togliere agli agricoltori le difficoltà concernenti l'acquisto, il dosaggio e la miscelazione dei sali degli elementi micronutritivi a quelli macronutritivi.

Altrettanto vantaggiosa, se non di più, è la miscelazione dei sali ai concimi organici, specialmente allo stallatico prima che sia maturo; questo aspetto della concimazione micronutritiva non è stato ancora bene studiato, ma pare che il vantaggio stia nel fatto che un certo numero di elementi viene assimilato dai microrganismi batterici e fungini che attuano sullo stallatico, e gli elementi stessi verranno quindi portati nel suolo sotto forma organica.

La via parallela è quella della somministrazione di piccole dosi di elementi micronutritivi alle piante per nebulizzazione. Perchè tale metodo sia economico, occorre che le soluzioni vengano nebulizzate assieme a quelle usualmente effettuate nella lotta antiparassitaria, ad es., gli alberi fruttiferi. Per tale via di somministrazione le dosi sono ancora più basse che per miscelazione ai concimi chimici; ma vi è qualche difficoltà da superare circa la natura dei sali e le dosi reciproche. Infatti tali sali debbono essere facilmente assimilati per via fogliare, problema che non è eguale a quello dell'assimilazione per via radicale. In particolare vi è da tener presente che la presenza di calce o comunque l'alcalinità dei prodotti o delle miscele antiparassitarie (anticrittogamiche ed insetticide) può rendere difficile la penetrazione dei cationi per via fogliare.

Occorre dunque che qualche ditta specializzata in prodotti chimici per l'agricoltura affronti questo problema, fornendo agli agricoltori la miscela dei sali — nelle dosi e nella forma opportuna — perchè siano aggiunti alle sospensioni dei prodotti antiparassitari; ad es., dell'arseniato di piombo o di calcio, o ai sali di rame, o a prodotti insetticidi clororganici o fosforganici, ecc.

Sotto queste condizioni il trattamento, mentre rimane molto economico, è di rapida efficacia.

Un metodo più nuovo, ma valevole per le piante erbacee, è quello della « confettatura » o « concia » delle cariossidi e dei semi con dei sali di elementi fertilizzanti. Una serie di dati recenti sta a dimostrare la convenienza non soltanto di una concimazione micronutritiva per questa via, ma anche di una concimazione potassica e fosforica. Ad es., per il Frumento, il vantaggio sarebbe molto notevole nell'aiutare le plantule nei primi stadi del loro sviluppo, mentre l'azione fissatrice degli ioni da parte del suolo, attraverso questa via di somministrazione, sarebbe ridotta o praticamente nulla.

Come in precedenza, questo trattamento dovrebbe essere abbinato a quello di concia delle sementi agli effetti anticrittogamici, che si fa — o si dovrebbe fare — per le sementi di tutte le piante agrarie, oppure quella agli effetti insettifughi ed insetticidi. Anche in questo caso si dovrebbero studiare due o tre formule che riunissero i vantaggi del trattamento anticrittogamico e insettifugo-insetticida, con quello di una concimazione localizzata e specializzata, con un costo minimo.

In conclusione se la cura delle malattie di carenze delle piante agrarie può richiedere l'intervento dei tecnici agrari, questi mezzi di prevenzione dovrebbero entrare nelle pratiche agrarie colturali ordinarie anche solo per iniziativa degli agricoltori : l'aggravio di spesa, di fronte ai vantaggi che se ne conseguono, ne fanno una delle pratiche più raccomandabili per il miglioramento colturale delle piante.

Istituto Botanico dell'Università
e Laboratorio Crittogamico Italiano - Pavia

Volume VII (236 pagg.) 1945-48. Completo con indice . . . . . . L. 2.850,—

(1) Ciferri R. Note ecologiche sulla *Chara zeylanica* nella Repubblica Dominicana. - I risi perennati (*Oryza perennis* e *O. latifolia*) nella Repubblica Dominicana. - Qualche esperienza ecologica sul *Maratrum cubanum* (Podestemonaceae). - L'« habitat » e la micorrizia di alcune Burmanniacee della Repubblica Dominicana. - Saggio d'emerecologia sulle comunità agrestali delle regioni irrigue della Repubblica Dominicana (Antille) e del Benadir (Somalia Italiana) (pagg. 1-96), 1946. - (2) Tomaselli R. La pelouse à *Aphyllanthes* (Aphyllanthion) de la garrigue Montpellièraine.

Volume VIII

(1) Ciferri R. Recenti progressi italiani nel campo degli anticrittogamici (pagg. 1-42), 1946 . . . . L. 750,—

(2) Baldacci E. Epifitie di *Plasmopara viticola* (1941-46) nell'Oltrepò pavese ed adozione del calendario di incubazione come strumento di lotta (pagg. 45-86), 1947 L. 300,—

(3) Baldacci E., Orsenigo M. Quattro anni d'impiego del calendario d'incubazione della peronospora della vite (1946-1949 (pagg. 87-123), 1950 . . . L. 600,—

(4) Ciferri R., Bertossi F. Efficacia inibitoria dell'O-isopropil-N-fenilcarbamato sullo sviluppo del *Cynodon dactylon*. - Bertossi F., Ciferri R. Contributo alla conoscenza dell'attività fitoinibitoria del γ -esaclorocicloesano. - Bertossi F., Tomaselli R. Forme biologiche delle piante e resistenza o suscettibilità al « 2,4-D ». - Bertossi F., Ciferri R. Formule per la correzione della percentuale di mortalità delle spore. - Bertossi F. L'idrazide maleica come fitormone. - Ciferri R., Bertossi F. Metodi biologici di saggio degli erbicidi selettivi. - Capozzi A. Azione dell'O-isopropil-N-fenilcarbamato e del γ -esaclorocicloesano sui tessuti di radice di carota coltivati « in vitro ». - Ciferri R. Qualche dato recente circa le malattie da carenza nutrizionale degli alberi fruttiferi (pagg. 124-204), 1950 . . . . L. 1.000,—

Volume IX

(1) Giacomini V., Bertossi F. Osservazioni geobotaniche in un lembo della Lüneburger Heide. - Giacomini V. Documenti sulla vegetazione recente delle « lame » e delle torbiere fra l'Oglio ed il Mincio (pagg. 1-123), 1946 . . . . L. 1.200,—

(2) Giacomini V. Contributo alla conoscenza della flora lombarda. - Giacomini V. Descrizione di alcune nuove briofite sudalpine. - Giacomini V. Una stazione di *Homalia lusitanica* Schimp. al limite settentrionale dell'areale e contributo alla conoscenza della distribuzione in Italia. - Giacomini V., Ciferri R. Un'associazione crittogamica a *Polytrichadelphus* e *Cora* (*Coreto-Polytrichadelphetum Ciferrii*) su rocce della « foresta delle nebbie » in Venezuela. - Bertossi F. Contributo alla conoscenza della flora dei dintorni di Bormio. - Bertossi F. Appunti geobotanici su di un « dosso » sabbioso della Lomellina (Pavia) (pagg. 124-240), 1950 . . . . L. 1.200,—

SUPPLEMENTI

Vol. A - Ciferri R. - Flora e vegetazione delle Isole italiane dell'Egeo (1944) (200 pagg.) . . . . L. 600,—

Vol. B - Index Generalis Actorum 1874-1941 (1944) (37 pagg.) . . . L. 300,—

Vol. C - Giacomini V. - Flora micologica dell'Agro Bresciano (*Hymenomycetae, Helvellineae, Pezizineae*) (1947) (159 pagg.) . . . . L. 1.500,—

Vol. D - Ciferri R., Giacomini V. e Poggio P. - La Flora fanerogamica delle risaie dell'Italia transpadana (1949) (26 pagg.) . . . . L. 300,—

Vol. E - Borzini G. - Ricerche sullo *Psalliota campestris* Fr. e notizie sulla fungicultura in Italia (1949) (26 pagg.) . . . . L. 600,—

Vol. F - Tomaselli R. - Guida pratica al rilievo dei raggruppamenti vegetali con particolare riferimento ai pascoli e ai prati (1946) (29 pagg.) . . . . . L. 900,—

Vol. G - Ciferri R. y Ciferri F. - Reconocimiento de la exploración cacaotera de los Andes Venezoelanas (1950) (37 pagg.) . . . . L. 1.000,—

Vol. H - Castellani E. et Ciferri R. - Mycoflora Erythraea, Somala et Aethiopica - Supplementum I (1950) (52 pagg.) . . . . L. 1.200,—

MISCELLANEA

1947-48 - Nove estratti di Baldacci E., Bertossi F., Ciferri F., Ciferri R., Giacomini V., Minerbi G., Redaelli P. e Scaramuzzi G.

ESSICCATE E PUBBLICAZIONI DEGLI ISTITUTI

ESSICCATE

GAROVAGLIO S. - *Bryotheca austro-italica.* Dec. I-XXX (1832-46) (esaurita).
GAROVAGLIO S. - *Lichenotheca italica.* Ed. I, dec. 25 (1836-44). Ed. II, dec. 46 (1846-49) (esaurita).
GAROVAGLIO S., MANDELLI P. - *Filices Provinciae Comensis* (1857) (esaurita).
BRIOSI G., CAVARA F., POLLACCI G. - *I funghi delle piante coltivate ed utili.* Fasc. I-XIX (1888-1926) (esaurita).
CAVARA F., POLLACCI G. - *Fungi Longobardiae Exsiccati.* Pugilli I-VII (1892-1919) (esaurita).
POLLACCI G., NANNIZZI A. - *I miceti patogeni dell'uomo e degli animali.* Fasc. I-X (1922-30).
CIFERRI R. - *Mycoflora Domingensis Exsiccata.* Cent. I-III (1931-39). (Cent. IV in corso di pubblicazione).

PUBBLICAZIONI PERIODICHE

Archivio Triennale del Laboratorio Crittogamico Italiano (Direttore S. GAROVAGLIO), 5 volumi (1874-88) (il vol. I è esaurito).
Atti dell'Istituto Botanico e del Laboratorio Crittogamico
Serie II (Direttore G. BRIOSI) 18 volumi (1888-1921).
» III (» L. MONTEMARTINI) 3 volumi (1923-27).
» IV (» G. POLLACCI) 13 volumi (1929-42).
» V (» R. CIFERRI) voll. I, II, III, IV, V, VI, VII (1943-50), voll. VIII e IX (1945-50), in corso di pubblicazione.
Mycopathologia (Direttori R. CIFERRI e P. REDAELLI), vol. I-IV (1941-46); vol. V (1948-49) in corso di pubblicazione.
Archivio Botanico (Direttori R. CIFERRI e P. ZANGHIERI). Serie III, 9 volumi (1941-48) vol. XVII-XXV dalla fondazione; vol. XXVI (1950) in corso di pubblicazione.
Notiziario sulle Malattie delle Piante (Direttori R. CIFERRI ed E. BALDACCI). N. 1-12 (1949-50).
Trattato di Micopatologia Umana diretto da G. POLLACCI
Vol. I PERIN A. - *Le micosi polmonari e generalità sui miceti,* 1925 (esaurito).
» II BOLOGNESI G., CHIURGO G. A. - *Micosi chirurgiche,* 1927 (esaurito).
» III CAVARA V. - *Micosi oculari,* 1938 (esaurito).
» IV NANNIZZI A. - *Repertorio sistematico dei miceti patogeni dell'uomo e degli animali,* 1934 (esaurito).
» V REDAELLI P., CIFERRI R. - *Le granulomatosi fungine dell'uomo nelle regioni tropicali e subtropicali,* 1942 (esaurito).

Per cambi rivolgersi alla (For exchange adress to)
ISTITUTO BOTANICO (Casella Postale 165) PAVIA

Per acquisti rivolgersi alla (For orders adress to)
Libreria Internazionale A. Garzanti S. A. (Palazzo Università) PAVIA

Prezzo del presente fascicolo L. 600